

VERÄNDERUNGEN DES GERINNUNGSFAKTORS XIII BEI KARDIOCHIRURGISCHEN EINGRIFFEN

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Stephanie Schönberg

geboren am 29. September 1986 in Erfurt

Gutachter

- 1. PD Dr. med. Wolfgang Lösche, Jena**
- 2. PD Dr. med. Klas Böer, Jena**
- 3. Prof. Dr. med. habil. Eckehard Knoth, Bad Berka**

Tag der öffentlichen Verteidigung: 04.02.2014

Abkürzungsverzeichnis

ACT	Activated Clotting Time
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
ASS	Acetylsalicylsäure
AT III	Antithrombin III
CI	Konfidenzintervall
CFT	Clot Formation Time
CT	Clotting Time
EK	Erythrozytenkonzentrat
FFP	Fresh Frozen Plasma
FXIII	Faktor XIII
HES	Hydroxyethylstärke
MCF	Maximum Clot Firmness
NaCl	Natriumchlorid
ROTEM	Rotationsthrombelastometrie
TK	Thrombozytenkonzentrat

Inhaltsverzeichnis

1. ZUSAMMENFASSUNG	1
2. EINLEITUNG.....	3
2.1 Gerinnungsproblematik bei kardiochirurgischen Eingriffen	3
2.2 Grundlagen der Hämostase	6
2.2.1 Primäre Hämostase	6
2.2.2 Sekundäre Hämostase.....	7
2.3 Faktor XIII	9
2.3.1 Struktur des Faktor XIII	9
2.3.2 Aktivierung des Faktor XIII	9
2.3.3 Substrate des Faktor XIII	12
2.3.4 Funktionen des Faktor XIII	12
2.3.5 Faktor XIII-Mangel.....	14
2.3.6 Nachweismethoden für Faktor XIII.....	15
3. AUFGABE UND ZIELSTELLUNG	20
4. MATERIAL UND METHODEN.....	21
4.1 Patientenselektion.....	21
4.2 Messzeitpunkte und Probengewinnung.....	21
4.3 Messverfahren	22
4.4 Messablauf	23
4.5 Datenerfassung	24
4.6 Operationsspezifische Standards	26
4.6.1 Anästhesie.....	26
4.6.2 Gerinnungsmanagement.....	26
4.6.3 Extrakorporale Zirkulation	27
4.7 Statistische Methoden	28
5. ERGEBNISSE	29
5.1 Patientencharakteristik	29
5.1.1 Alter und Geschlecht.....	29
5.1.2 Risikofaktoren kardiovaskulärer Erkrankungen	30
5.1.3 Haupt- und Nebendiagnosen	30
5.1.4 Gerinnungshemmende Medikation	32

5.2 Operationsspezifische Daten	33
5.2.1 Operationstypen	33
5.2.2 Antikoagulation	33
5.2.3 Operationsspezifische Zeiten	34
5.2.4 Perioperative Transfusion von Blutprodukten, Plasmaderivaten sowie Flüssigkeits- und Volumentherapie	35
5.2.5 Postoperative Transfusion von Blutprodukten, Plasmaderivaten sowie Flüssigkeits- und Volumentherapie	36
5.2.6 Postoperativer Blutverlust	36
5.3 Hämodilution	38
5.3.1 Faktor XIII-Aktivität	41
5.3.2 Quick-Wert	42
5.3.3 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)	43
5.3.4 Thrombozyten	44
5.3.5 Fibrinogen	45
5.4 Zeitlicher Verlauf der ROTEM®-Parameter	46
5.4.1 EXTEM	46
5.4.2 FIBTEM	48
5.5 Korrelationen zwischen Faktor XIII-Aktivität und Hämotherapie	49
5.6 Korrelation zwischen der Faktor XIII-Aktivität und ausgewählten Hämostaseparametern	50
5.7 Postoperativer Blutverlust	51
5.7.1 Korrelation zwischen der Faktor XIII-Aktivität und dem postoperativen Blutverlust	51
5.7.2 Korrelation weiterer Hämostaseparameter und ROTEM®-Parametern mit dem postoperativen Blutverlust	52
5.7.3. Lineares Regressionsmodell	53
5.8 Zusammenhang der Faktor XIII-Aktivität und weiteren Hämostaseparametern mit ROTEM®-Parametern	55
5.9 Zusammenhang zwischen ROTEM®-Parametern und Volumenersatz sowie Blut- und Plasmaprodukten	58
6. DISKUSSION	60
6.1 Patientencharakteristik	60
6.2 Verlauf der Faktor XIII-Aktivität	61
6.3 Korrelation zwischen der Faktor XIII-Aktivität und der Hämotherapie sowie ausgewählten Hämostaseparametern	62
6.4 Korrelation zwischen Faktor XIII-Aktivität und dem postoperativen Blutverlust	64
6.5 Korrelation zwischen der Faktor XIII-Aktivität und ROTEM®	68

7. SCHLUSSFOLGERUNGEN.....	73
8. LITERATURVERZEICHNIS	74
9. ANHANG.....	83
9.1 Danksagung	83
9.2 Ehrenwörtliche Erklärung.....	84
9.3 Lebenslauf.....	85

1. Zusammenfassung

Intra- und postoperative Hämorrhagien stellen bei kardiochirurgischen Patienten unter Verwendung einer Herz-Lungen-Maschine eine häufige Komplikation dar. Dem Gerinnungsfaktor XIII wird hierbei in der Literatur eine essentielle Aufgabe bei der Stabilisierung eines Gerinnsels durch Quervernetzung der Fibrinstränge zugesprochen. Faktor XIII wird über routinemäßig durchgeführte Globaltests wie dem Quick-Wert oder der aPTT jedoch nicht erfasst.

Die vorliegende Arbeit analysiert die Veränderung der intra- und postoperativen Faktor XIII-Aktivität bei kardiochirurgischen Eingriffen unter extrakorporaler Zirkulation. Weiterhin wurde der Zusammenhang zwischen der Faktor XIII-Aktivität und dem postoperativen Blutverlust sowie der Festigkeit des gebildeten Clots untersucht. Hierzu wurden Citratplasmaproben von 99 Patienten, die sich am Universitätsklinikum Jena einem herzchirurgischen Eingriff unter kardiopulmonalem Bypass unterzogen, vermessen. Die Probenentnahmen erfolgten präoperativ nach Narkoseeinleitung, direkt postoperativ und 18 Stunden postoperativ. Die Bestimmung der Faktor XIII-Aktivität erfolgte über ein fluoreszenzoptisches Verfahren (Fluorescent Factor XIII Assay, Zedira GmbH Darmstadt). Weitere verwendete Laborparameter wurden den Krankenblättern entnommen. Die ROTEM®-Parameter standen zur Verfügung. Die Daten der vorliegenden Arbeit postulieren zunächst einen signifikanten Abfall der Faktor XIII-Aktivität zum direkt postoperativen und zum 18 Stunden postoperativen Zeitpunkt. Eine Differenzierung zwischen realem Verbrauch des Faktor XIII oder einer Dilution über die intraoperative Volumentherapie erfolgte über Normierung der Aktivität auf den Hämatokrit. Dabei kann in der vorliegenden Arbeit eine deutliche Nivellierung der postoperativen Aktivitätsabnahme des Faktor XIII festgestellt werden. Der direkt gemessene postoperative Abfall scheint demnach eher durch eine Hämodilution als durch einen Verbrauch bedingt zu sein. In der durchgeführten Korrelationsanalyse, sowie in der linearen Regressionsanalyse werden signifikante Zusammenhänge zwischen der Faktor XIII-Aktivität und dem postoperativen Blutverlust deutlich. Besonders zum direkt postoperativen Messzeitpunkt ist eine niedrigere Faktor XIII-Aktivität mit einem erhöhten Blutverlust assoziiert. Weiterhin korreliert der postoperative Blutverlust hoch

signifikant mit der Fibrinogenkonzentration sowie den postoperativen ROTEM®-Parametern Clot Formation Time (CFT) und der Maximum Clot Firmness (MCF). Außerdem konnte ein niedrig signifikanter Zusammenhang der Faktor XIII-Aktivität mit der MCF in ROTEM® zum direkt postoperativen Messzeitpunkt festgestellt werden. Die durchgeführte lineare Regressionsanalyse, welche weitere Gerinnungsparameter wie Thrombozytenzahl, Fibrinogenkonzentration, aPTT und Quick-Wert als unabhängige Variablen mit einbezog, zeigte jedoch, dass eine weitaus größere Beeinflussung der MCF in beiden ROTEM®-Analysen, EXTEM und FIBTEM, durch die Thrombozytenzahl und die Fibrinogenkonzentration in unserer Studie erfolgt. Während die Faktor XIII-Aktivität eher niedrig signifikant korreliert ($p < 0,01$), korrelieren die Thrombozytenzahl und die Fibrinogenkonzentration zu allen Messzeitpunkten hoch signifikant ($p < 0,001$) mit der MCF.

Der klinische Benefit einer präoperativen Einzelbestimmung der Faktor XIII-Aktivität hinsichtlich einer prädiktiven Aussage bezüglich postoperativer Hämorrhagien oder der intraoperativen Substitution durch ein Faktor XIII-Präparat scheint in unserer Patientengruppe fraglich.

2. Einleitung

2.1 Gerinnungsproblematik bei kardiochirurgischen Eingriffen

In Deutschland werden jährlich über 150.000 operative Eingriffe am offenen Herzen durchgeführt (Clade 2010). Indikationen für kardiochirurgische Eingriffe ergeben sich z. B. bei Patienten mit Herzklappendefekten, bei Stenosierungen oder Verschlüssen der Koronargefäße infolge von Herz-Kreislaufferkrankungen oder bei Kindern mit kongenitalen Herzfehlern. Trotz Verfeinerung der Operationstechnik und einer fortlaufenden intensiven Überwachung der Patienten verlaufen 20% der durchgeführten Operationen mit einer Beeinträchtigung der primären oder sekundären Hämostase. Postoperative Blutungen können dabei zu schwerwiegenden Komplikationen führen und stellen keine Seltenheit dar. Resultierend muss bei ca. 1–3 % der Patienten aufgrund einer Gerinnungsstörung revidiert werden (Hartmann et al. 2005).

Die Ursachen postoperativer Blutungsereignisse nach kardiochirurgischen Eingriffen sind mannigfaltig (Abb.1). Nur 50 % der reexplorierten Patienten weisen dabei eine chirurgisch bedingte Ursache wie insuffiziente Gefäßnähte auf. Eine wichtige Ursache hoher Blutverluste bei kardiochirurgischen Patienten stellen die Verlust- und die Dilutionskoagulopathie dar (Paparella et al. 2004). Perioperative Blutungen im Rahmen kardiochirurgischer Operationen führen zum kontinuierlichen Verlust von obligaten Bestandteilen des Gerinnungssystems, die durch den Organismus selbst nicht adäquat kompensiert werden können. Durch folgenden Einsatz von Volumenersatzmitteln, wie kristalloider oder kolloidaler Lösungen, unter der extrakorporalen Zirkulation, kann zusätzlich zur bestehenden Verlustkoagulopathie eine massive Dilution wichtiger Komponenten des Hämostasesystems resultieren. Diese massive Entgleisung des Gerinnungssystems unter Verbrauch- und Dilutionskoagulopathie kann bis zur Entwicklung eines hämorrhagischen Schocks führen (Spannagl 1998). Die unphysiologische Oberfläche der Bestandteile der Herz-Lungen-Maschine führt zur Aktivierung des Gerinnungssystems mit einhergehendem weiteren Verbrauch der Gerinnungsfaktoren sowie der Thrombozyten und der Aktivierung des

Komplementsystems (Chenoweth et al. 1981). Gleichzeitig wird über die weitere Aktivierung von Faktor XII, Kallikrein, Thrombin- und Plasminogenaktivatoren der Fibrinolyseprozess weiter initiiert, was im Falle einer Hyperfibrinolyse, die Ausbildung eines stabilen Thrombus verhindert (Fischlein 2000). Eine erhöhte Aktivität von Thrombin führt neben der Aktivierung der Gerinnungsfaktoren V, VIII und XIII gleichzeitig auch zur Freisetzung von tissue plasminogen activator (t-PA), tissue factor pathway inhibitor (TFPI), sowie der Aktivierung von Protein C. Protein C ist in der Lage die aktivierten Gerinnungsfaktoren V und VIII zu eliminieren. Dadurch trägt Protein C ebenfalls zur Inhibition der Hämostase bei (Despotis et al. 1999). Gleichzeitig erfolgt über Thrombin aber auch die Aktivierung des Faktor XIII, welcher zur Quervernetzung der Fibrinmonomere benötigt wird und so das entstandene Gerinnsel stabilisiert (Muszbek et al. 1999).

Der Kontakt zur nonendothelialen Oberfläche der Herz-Lungen-Maschine führt weiterhin zur Aktivierung der Thrombozyten, zum Verlust von Thrombozytenrezeptoren wie GpIIb/IIIa und zu einer reduzierten Thrombozytenfunktion. Ebenfalls wird ein Funktionsverlust der Thrombozyten und eine weitere Thrombozytenabnahme durch Hämodilution beschrieben (O'Carroll-Kuehn und Meeran 2011, Sniecinski und Chandler 2011).

Bei chirurgischen Eingriffen unter extrakorporaler Zirkulation erfolgt die notwendige Antikoagulation routinemäßig durch Heparin. Heparin bindet Antithrombin III und verstärkt seine inhibitorische Funktion auf Faktor Xa um ein Vielfaches. Zusätzlich beeinflusst Heparin die Gerinnungsaktivierung über TFPI und stimuliert die Fibrinolyse (O'Carroll-Kuehn und Meeran 2011). Eine unzureichende postoperative Antagonisierung des Heparins durch Protamin wird ebenfalls für das Auftreten postoperativer Hämorrhagien verantwortlich gemacht (Fischlein 2000).

Die zeitnahe Diagnostik von perioperativen und postoperativen Gerinnungsstörungen (Point-of-Care-Testing) erscheint daher wesentlich. Forderungen insbesondere an die prä- und intraoperative Gerinnungsdiagnostik beinhalten neben der vollständigen Erfassung der Gerinnungsabläufe eine rasche Verfügbarkeit der Ergebnisse als notwendige Voraussetzung für unmittelbar zu treffende Therapieentscheidungen.

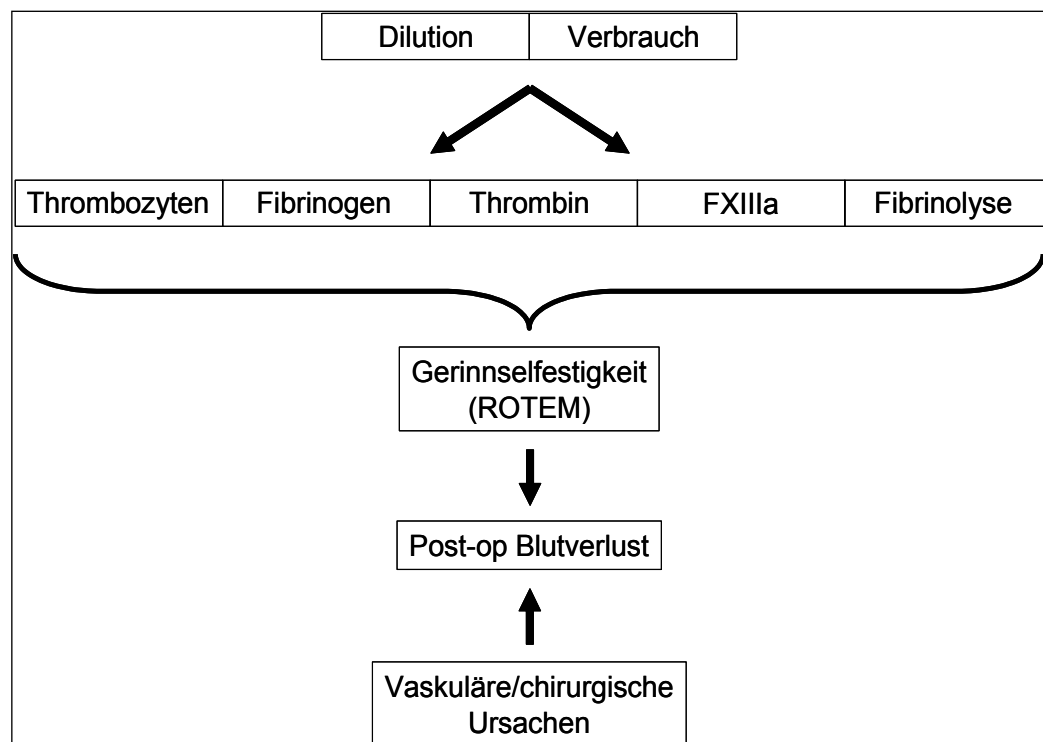


Abb. 1 Häufige Ursachen postoperativer Blutungen nach kardiochirurgischen Eingriffen.

Durch die Einführung verschiedener auf Thrombelastographie basierender Methoden konnte bereits eine Verbesserung der Diagnostik erreicht werden (Lang und Von Debka 2006). Jedoch wurde trotz zahlreicher Studien bisher kein geeigneter Parameter zur Risikobestimmung für das Auftreten postoperativer Blutungen gefunden. Eine relativ gute prognostische Wertigkeit bieten derzeit ROTEM® basierte Methoden, u.a. über die Bestimmung der Gerinnselfestigkeit (Reinhöfer 2007).

Da Globaltests, wie die beiden Gruppentestungen Thromboplastinzeit und partielle Thromboplastinzeit, sowie Vollblutmethoden wie die Thrombelastographie, nicht alle Faktoren der Blutgerinnung erfassen, sollten Methoden wie die Einzelfaktorbestimmung des Faktor XIII und die Erhebung einer ausführlichen präoperativen Gerinnungsanamnese in Erwägung gezogen werden (Pfanner et al. 2007). Neben der etablierten Therapie von Gerinnungsstörungen mit Blut- und Plasmaprodukten, konnten der Einsatz des rekombinanten Faktors VII und der Einsatz von Faktor XIII-Präparaten das therapeutische Spektrum erweitern (Lusher et al. 2010).

2.2 Grundlagen der Hämostase

Der komplexe Prozess der Hämostase besteht aus einer Vielzahl parallel verlaufender, ineinandergreifender physiologischer Reaktionen. Eine Einteilung in die primäre und sekundäre Hämostase erfolgt aus didaktischen Gründen.

2.2.1 Primäre Hämostase

In der ersten Phase der Gerinnungskaskade spielen die Thrombozyten eine wesentliche Rolle. Traumatisch freigelegte Kollagenfibrillen der Blutgefäßmembran werden durch den von-Willebrand-Faktor (vWF) markiert. Über diesen wird eine Bindung zwischen Endothel und GPIb Rezeptor der Thrombozyten vermittelt. Durch weitere Kollagenrezeptoren kommt es zur Thrombozytenaktivierung, die mit einer Formänderung der Thrombozyten einhergeht. Eine Konformationsänderung der GPIIb/ IIIa Rezeptoren initiiert weitere Adhäsionsvorgänge der Thrombozyten an der Endothelwand. Weiterhin werden durch die Enzyme Floppase / Scramblase negativ geladene Phospholipide als unerlässliche Bindungspunkte für Ca^{2+} -bindende Blutgerinnungsproteine in die Plasmamembranoberfläche der Thrombozyten eingelagert (Preissner 2010). Durch die Degranulation der α - und δ -Granula der Thrombozyten kommt es zur Sekretion der Gerinnungsfaktoren VIII, V, I, sowie von Fibronectin und mehreren Wachstumsfaktoren, wie z.B. dem platelet-derived growth factor (PDGF). Inhaltsstoffe der δ -Granula sind ADP, bedeutend für Aktivierung und Bindung weiterer Thrombozyten, Thromboxan- A_2 zur zusätzlichen Thrombozytenrekrutierung und Vasokonstriktion, Plättchen-aktivierender Faktor (PAF), Calcium und Serotonin in seiner Funktion als Vasokonstriktor.

Der GPIIb/IIIa Rezeptor bindet auch Fibronectin, Fibrinogen und Fibrin. Dadurch kommt es zur Quervernetzung des entstehenden Thrombus. Dieser signalisiert das Ende der Blutstillung.

2.2.2 Sekundäre Hämostase

Hauptaufgabe der Blutgerinnung ist die Stabilisierung des während der primären Hämostase entstandenen Thrombus. Für die Initiierung der sekundären Hämostase ist heute das Modell der zell-basierten Hämostase allgemein akzeptiert (Hoffman 2003).

Dieses gliedert sich in drei Phasen: die Initiation, die Amplifikation und die Propagation (Abb.2). Die Initiationsphase wird durch den bei Verletzung exponierten tissue factor (TF) eingeleitet, welcher sich physiologisch an der Oberfläche von Endothelzellen befindet. Der Gerinnungsfaktor VIIa (FVIIa) zirkuliert im Blutplasma in seiner aktiven Form und bindet bei Verletzung der Endothelwand an den exponierten tissue factor. Durch diesen Komplex (TF-FVIIa) werden anschließend Faktor IX (FIX) und Faktor X (FX) aktiviert. FX assoziiert mit Faktor Va (FVa). Dieser Komplex hat die Funktion einer Prothrombinase und überführt inaktives Prothrombin in Thrombin (FIIa). In der Phase der Amplifikation erfolgt über Ca^{2+} eine Bindung des freigesetzten Thrombins an der Oberfläche der Thrombozyten, in deren Folge eine Konformationsänderung der aktivierten Thrombozyten eintritt. Es resultiert die Freisetzung verschiedener prohämostatischer Granula und die Rekrutierung weiterer Thrombozyten. Die Generierung von Thrombin bewirkt in dieser Phase weiterhin eine Aktivierung des Faktor XI (FXI) und des Faktor V (FV) an der Thrombozytenoberfläche, sowie die Abspaltung des von-Willebrand-Faktors (vWF) aus dem zirkulierenden Komplex aus Faktor VIII (FVIII) und vWF. FVIII wird anschließend ebenfalls durch Thrombin in seine aktive Form überführt. In der Phase der Propagation findet an der Oberfläche der aktivierten Thrombozyten die Bindung des durch den TF-FVIIa Komplex aktivierten FIX im Komplex mit Faktor VIIIa statt. Der Komplex aus FVIII und FIX wird als intrinsische Tenase bezeichnet und aktiviert FX. FXa assoziiert mit FVa und führt wiederum zur Spaltung von Prothrombin in Thrombin. Am Ende der Blutgerinnung generiert Thrombin die Aktivierung von Faktor XIII (FXIII). Dieser unterstützt die Quervernetzung des Fibrins und stabilisiert so das Gerinnsel (Preissner 2010, Petrides 2007, Mutschler et al. 2008, Hoffman und Monroe 2003).



8

2.3 Faktor XIII

2.3.1 Struktur des Faktor XIII

Im Plasma zirkuliert Faktor XIII als Zymogen mit je 2 identischen Untereinheiten (A₂B₂). Der aus Polypeptidketten bestehende tetramere Komplex wird über nicht-kovalente Bindungen verbunden (Schwartz et al. 1971).

Die Faktor XIII-A-Untereinheit wird in Knochenmarkszellen sowie in Monozyten/Makrophagen gebildet und befindet sich im Plasma ausschließlich an den Tetramerkomplex gebunden. In der A-Untereinheit sind das aktive Zentrum (core domain), das Aktivationspeptid, eine β -Sandwich Domäne und 2- β -Barrel lokalisiert. Nur die A-Untereinheit besitzt enzymatische Aktivität (Bereczky et al. 2003). Den Syntheseort der Faktor XIII-B-Untereinheit stellen die Hepatozyten dar. Im Gegensatz zur Faktor XIII-A-Untereinheit zirkuliert die B-Untereinheit zusätzlich zu 50 % frei im Plasma. Sie besteht aus 10 sich wiederholenden Glykoprotein-Domänen, sog. Sushi-Domänen. Hauptaufgabe der B-Untereinheit ist die Stabilisation der A-Untereinheit als Trägerprotein (Muszbek et al. 2008).

2.3.2 Aktivierung des Faktor XIII

In der Endphase der Gerinnungskaskade bewirkt Thrombin die Umwandlung von Proenzym Faktor XIII zu aktiviertem Faktor XIII (Faktor XIIIa) durch eine hydrolytische Abspaltung eines aus 37 Aminosäureresten bestehenden Aktivierungspeptids vom N-terminalen Ende der A-Untereinheit. Unter Anwesenheit von Ca^{2+} erfolgt die Abspaltung der B-Untereinheit. Durch das Vorhandensein von Fibrinogen wird dieser Vorgang beschleunigt (Janus et al. 1983, Bereczky et al. 2003). Nach Abspaltung des Aktivierungspeptids erfolgt eine Bindung mit der αC Region des Fibrinmoleküls. Faktor XIII befindet sich nun im reaktionsfähigen Zustand, da Cystein 314 im aktiven Zentrum freigelegt ist und bewirkt als Transglutaminase eine Quervernetzung der Fibrinketten (Smith et al. 2013).

Fibrinogen ist ein in der Leber synthetisiertes komplexes Plasma-Glykoprotein, bestehend aus drei, über Disulfidbrücken verbundenen, paarweise angeordneten Polypeptidketten (zwei $A\alpha$, zwei $B\beta$ und zwei γ). Es stellt einen essentiellen Faktor der Blutgerinnung dar (Herrick et al. 1999). Weiterhin ist für Fibrinogen ein proinflammatorischer Einfluss auf die Wundheilung, Angiogenese, Arteriosklerose, Myokardinfarkt, Rheumatoide Arthritis und verschiedene Karzinomtypen beschrieben (Bini et al. 1989, Wilhelmsen et al. 1984, Davalos und Akassoglou 2012).

Thrombin bewirkt im Fibrinogen durch Hydrolyse eine Umwandlung zu Fibrinmonomeren. Diese organisieren sich zu Protofibrillen, abschließend zu Fibrinfasern. Dieser Vorgang wird als Lateralassoziation bezeichnet. Eine Stabilisation des Gerinnsels bewirkt Faktor XIIIa durch Quervernetzung der α - und γ -Kette. Detaillierte Schritte dieser Prozesse sind in Abb. 3 dargestellt. (Muszbek et al. 1999, Pötzsch 1998, Lorand und Graham 2003).

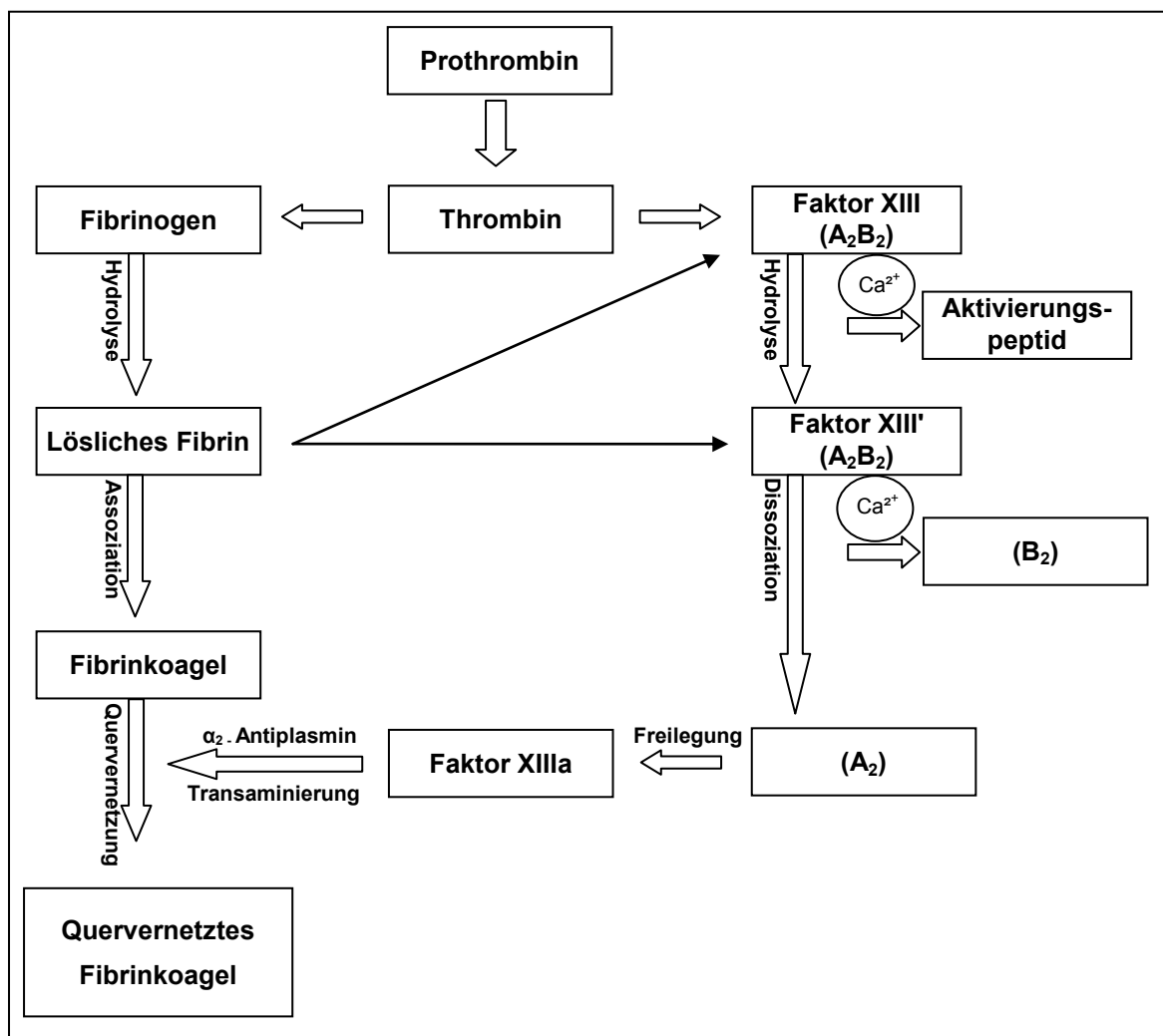


Abb. 3 Aktivierung des Faktor XIII (Lorand und Graham 2003).

Der Thiolrest von Cystein314 des aktiven Zentrums von Faktor XIIIa reagiert mit der Carboxylamidgruppe des Glutaminrestes der γ Kette. Das entstehende Zwischenprodukt reagiert unter Abspaltung von Ammoniak mit der ϵ -Aminogruppe eines proteingebundenen Lysinrestes. Es entsteht ein ϵ -(γ -Glutamyl)Lysyl welches kovalent die beiden Peptidketten des Fibrins quervernetzt.

Um das Gerinnsel vor vorzeitiger Lyse zu schützen, interagiert es mit α_2 – Antiplasmin, dem thrombin activated fibrinolysis inhibitor (TAFI) und dem plasminogen activator inhibitor 2 (PAI-2) (Ritchie et al. 1999, Nielsen et al. 2006). Derzeit wird angenommen, dass die antifibrinolytische Funktion des Faktor XIII maßgebend auf der Quervernetzung des α_2 -Antiplasmin beruht (Fraser et al. 2011).

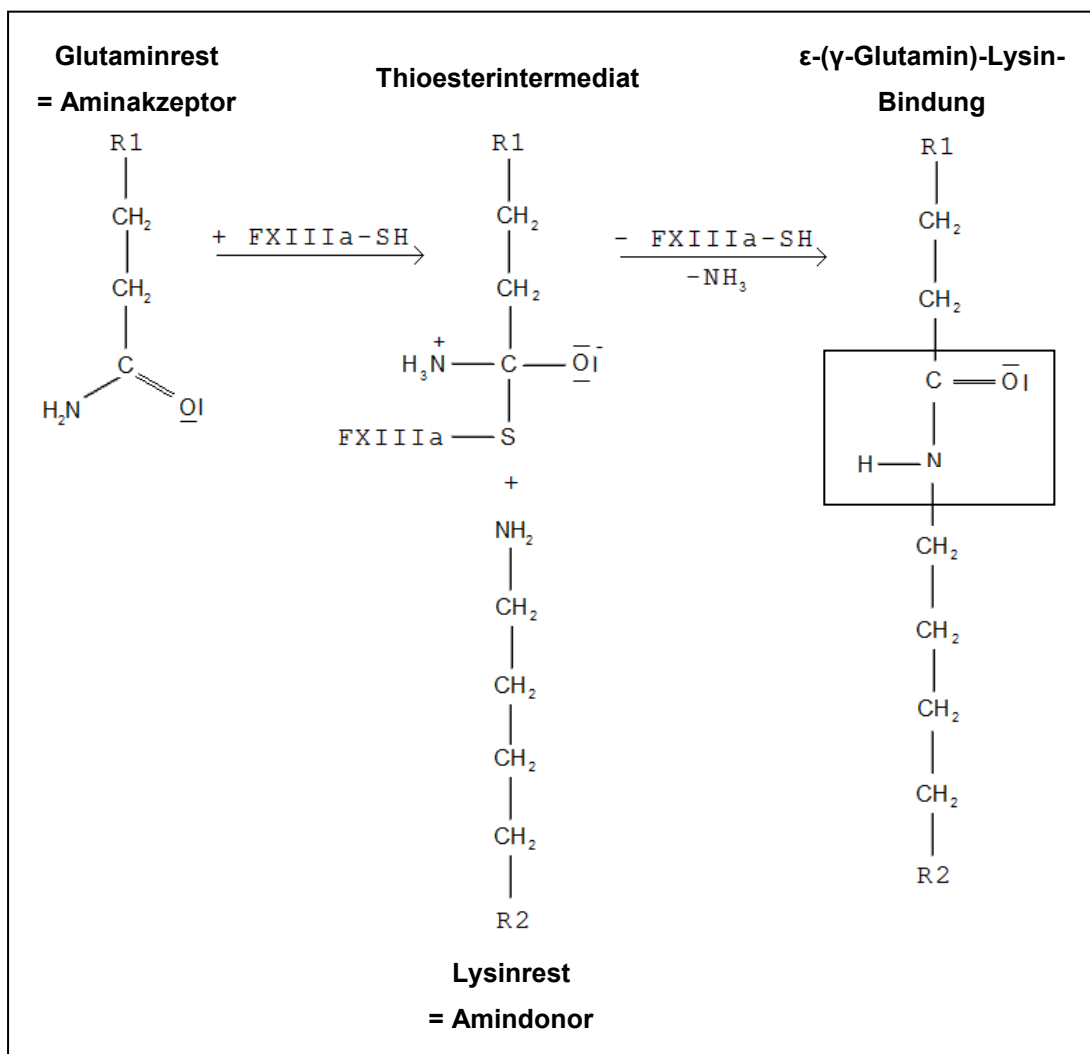


Abb. 4 Strukturformel der Fibrinquervernetzung durch Faktor XIIIa (Prasa und Sturzebecher 2002).

2.3.3 Substrate des Faktor XIII

Neben Thrombin wurden weitere Substrate für den Faktor XIIIa ermittelt: Blutgerinnungsfaktor V, α_2 -Antiplasmin, Typ 2 Plasminogenaktivator-Inhibitor (PAI-2) sowie Plasminogen (Lorand und Ong 1966, Francis et al. 1986, Aoki und Harpel 1984, Bendixen et al. 1993). Weiterhin gelten als Substrate die Adhäsionsproteine Fibronectin, welches durch Faktor XIIIa mit Kollagen quervernetzt wird, Vitronectin, Osteopontin und Elastin (Procyk et al. 1985, Sane et al. 1988, Prince et al. 1991, Martin et al. 1988). Ebenso wird angenommen, dass Thrombospondin durch Faktor XIII und die Glykoproteine GPIIb und GPIIIa umgesetzt wird (Bale und Mosher 1986, Cox und Devine 1994). Nach Hada et al. kann Faktor XIIIa den Einbau von Aminen in Faktor VIII bewirken und so die Quervernetzung mit Fibrin erzielen (Hada et al. 1986). Auch die kontraktilen Proteine Aktin und Myosin, sowie Vinculin, ein Protein des Cytoskeletts, können als Substrate dienen (Kahn und Cohen 1981, Asijee et al. 1988). Dardik et al. wiesen nach, dass Faktor XIIIa eine $\beta 3$ - Intergrin Komplexbildung mit dem vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR-2) auslöst und somit einen fördernden Einfluss auf die Angiogenese besitzt (Dardik et al. 2003).

2.3.4 Funktionen des Faktor XIII

Wie man aus der Vielzahl der Substrate schließen kann, hat Faktor XIII neben seiner Hauptaufgabe als fibrinstabilisierender Faktor in der Blutgerinnung besondere Bedeutung in der Wundheilung, Angiogenese und der Aufrechterhaltung einer Schwangerschaft (Wozniak und Noll 2002, Dardik et al. 2005, Dardik et al. 2003). 1966 berichteten Fisher et al. erstmals über spontane Aborte in Folge eines kongenitalen Faktor XIII-Mangels. In einer Vielzahl von Studien wurde beschrieben, dass Faktor XIII bei der Implantation eine entscheidende Rolle während der Interaktion zwischen Blastocysten und Uterus spielt (Inbal und Muszbek 2003, Kadir et al. 2009, Fisher et al. 1966). Weiterhin wurde experimentell durch Noll et al. nachgewiesen, dass Faktor XIIIa die endotheliale Schrankenfunktion verbessert (Noll und Wozniak 2002). In Verbindung mit neurodegenerativen Erkrankungen wie der Alzheimer Krankheit

wurde Faktor XIIIa in reaktiven Microglia und Makrophagen nachgewiesen (Akiyama et al. 1995, Yamada et al. 1998).

1979 wurde erstmals über genetische Polymorphismen des Faktor XIII von Board et al. berichtet, welche die Funktionen des Faktor XIII beeinflussen (Board 1979). Der Polymorphismus für das Gen der Faktor XIII-A-Untereinheit, Faktor XIII Val34Leu, ist hiervon der am intensivsten untersuchte und der in der Bevölkerung am häufigsten vorkommende Polymorphismus (Schroeder und Kohler 2010b, Kohler und Schroeder 2002). Hierbei ist die Aminosäure Valin an Position 34 gegen die Aminosäure Leucin ausgetauscht, was zu einer stärkeren Thrombinaffinität und damit zu einer erhöhten Aktivierungsrate des Faktor XIII führt. Resultierend ist eine veränderte Struktur des gebildeten Fibrinclots, welche u.a. auch von der Fibrinogenkonzentration moduliert wird. Hohe Fibrinogenkonzentrationen in Plasmaproben homozygoter Träger wiesen dabei eine schwächere Struktur, stärkere Fibrinfäden und eine erhöhte Permeabilität auf, währenddessen bei niedrigeren Fibrinkonzentrationen das Fibrinnetzwerk aus dünneren und wesentlich dichter komprimierten Fibrinfäden besteht (Ariens et al. 2000, Muszbek et al. 2010). Effekte aus diesen Veränderungen, wie protektive Eigenschaften gegenüber venöser Thrombose, ischämischen Apoplex aber auch ein erhöhtes Risiko für intracerebrale Blutungen und Myocardinfarkt werden kontrovers diskutiert (Catto et al. 1999, Corral et al. 2000, Rallidis et al. 2008, Shafey et al. 2007, Elbaz et al. 2000, Slowik et al. 2005, Gemmati et al. 2001, Silvain et al. 2011, Shemirani et al. 2010, Mannucci 2003).

2.3.5 Faktor XIII-Mangel

2.3.5.1 Kongenitaler Faktor XIII-Mangel

Zu den häufigsten kongenitalen hämorrhagischen Diathesen zählen die Hämophilie A und B sowie das von-Willebrand-Jürgens-Syndrom. Mangelzustände anderer Gerinnungsfaktoren, wie Fibrinogen, FII, FV, FX, FXI oder Faktor XIII, sind eher selten zu beobachten (Ivaskevicius 2008).

Ein autosomal rezessiver Faktor XIII-Mangel wurde erstmals 1960 von Duckert et al. diagnostiziert (Duckert et al. 1960). Die Häufigkeitsangaben bezüglich des Vorkommens eines angeborenen Faktor XIII-Mangels schwanken in der Literatur zwischen 1:3.000.000 bis zu 1:5.000.000 (Lorand et al. 1980, Board et al. 1993). Bei kongenitalen Faktor XIII-Mangelzuständen unterscheidet man grundsätzlich zwischen einem Faktor XIII-A und einem Faktor XIII-B Mangel. Dabei wurden über 70 Mutationen für die Faktor XIII-A-Untereinheit detektiert, währenddessen Mutationen der Faktor XIII-B-Untereinheit eine Seltenheit darstellen (Anwar und Miloszewski 1999).

Als Hauptsymptom für einen kongenitalen Faktor XIII-Mangel wird mit über 80 % die postnatale Nabelstumpfblutung genannt. Weitere typische Kennzeichen sind nach abnehmender Inzidenz: subkutane und intramuskuläre Blutungen, postoperative Blutung auch in Folge von Zahnextraktionen, Blutungen der Mundschleimhaut und der Gingiva, Gelenkblutungen sowie Wundheilungsstörungen (Ivaskevicius et al. 2007, Board et al. 1993, Anwar und Miloszewski 1999, Schroeder und Kohler 2010b, Karimi et al. 2009).

2.3.5.2 Erworbener Faktor XIII-Mangel

Erniedrigte Faktor XIII-Aktivitätsraten sind durch unterschiedlichste Umstände bedingt. Beobachtet wurden Mangelzustände durch eine erniedrigte Synthese des Faktor XIII bei Leberfunktionsstörungen wie akuter oder chronischer Hepatitis, sowie Leberzirrhose, aufgrund eines erhöhten Verbrauches bei disseminierter intravasaler Gerinnung und bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen wie Morbus Crohn, Colitis Ulcerosa oder hämorrhagischer Gastritis (Biland et al. 1978,

Song et al. 2006). Weiterhin wurde von Faktor XIII-Mangelzuständen unter gesteigerter Turnover-Rate bei Fällen akuter und chronischer Leukämien, sowie bei ausgedehnten Brandverletzungen und bei umfangreichen operativen Eingriffen, wie z.B. in der Neurochirurgie, berichtet (Nijenhuis et al. 2004, Gerlach et al. 2000). Erworbene Inhibitoren von Faktor XIII, aber auch gegen andere Gerinnungsfaktoren wie FVIII, FV, FVIII, FII, FVII, FIX, FX, sind meist von idiopathischer Natur oder assoziiert mit der Einnahme von Isoniazid, Penicillin Phenytoin und Practolol (McDevitt et al. 1972).

Eine äußerst seltene Form des erworbenen Faktor XIII-Mangels beschreibt die Bildung von Autoantikörpern gegen Faktor XIII. In mehr als 40 Fällen dieser Form des Faktor XIII-Mangels wurde über eine Autoimmunreaktion gegen die Faktor XIII A-Untereinheit berichtet. Dabei werden IgG Antikörper gebildet, welche auf unterschiedliche Weise die Faktor XIII-Aktivität beeinflussen. In ca. einem Drittel der Fälle entwickelt sich der Antikörper bei Patienten die bereits eine Autoimmunerkrankung wie Systemischen Lupus Erythematoses aufweisen (Muszbek et al. 2011, Ahmad et al. 1996). 2009 wurde erstmals über Antikörper gegen die B-Untereinheit von Faktor XIII berichtet (Ajzner et al. 2009).

2.3.6 Nachweismethoden für Faktor XIII

Ein angeborener oder erworbener Faktor XIII-Mangel kann zu erhöhter Blutungsneigung führen. Durch die herkömmlichen primären Global- oder Gruppentests kann Faktor XIII nicht erfasst werden. Daher ist in einigen Fällen eine separate Faktor XIII-Aktivitäts-Diagnostik zur Aufdeckung hämorrhagischer Diathesen unabdingbar (Zander 2007).

2.3.6.1 Immunologische Bestimmung des Faktor XIII

Nachdem in der Vergangenheit Elektroimmunassays oder Radioimmunassays zur immunologischen Diagnostik von Faktor XIII verwendet wurden, sind es heute ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) Testverfahren. Hierzu sind verschiedenste Methoden beschrieben, die entweder die einzelnen

Untereinheiten, oder auch den Komplex aus beiden Untereinheiten (A₂B₂) nachweisen. Katona et al. veröffentlichten 2000 die Möglichkeit eines Einschnitt-ELISA (Katona et al. 2000, Hartert 1948). Plasmaproben, Peroxidase-markierte Antikörper gegen die Faktor XIII-A-Untereinheit und biotinylierte Antikörper gegen die B-Untereinheit werden in Streptavidin beschichtete Mikrotiterplatten pipettiert. Der Komplex wird über die Antikörper gegen die B-Untereinheit an die beschichtete Oberfläche gebunden. Nicht gebundene Antikörper werden über eine Waschung mit Phosphatpuffer entfernt, die Peroxidaseaktivität wird vermessen. Diese ist direkt proportional zur Menge der vorhandenen Faktor XIII-Tetramere. Den schematischen Ablauf zeigt Abb. 5, modifiziert nach Katona et al. (Katona et al. 2000).

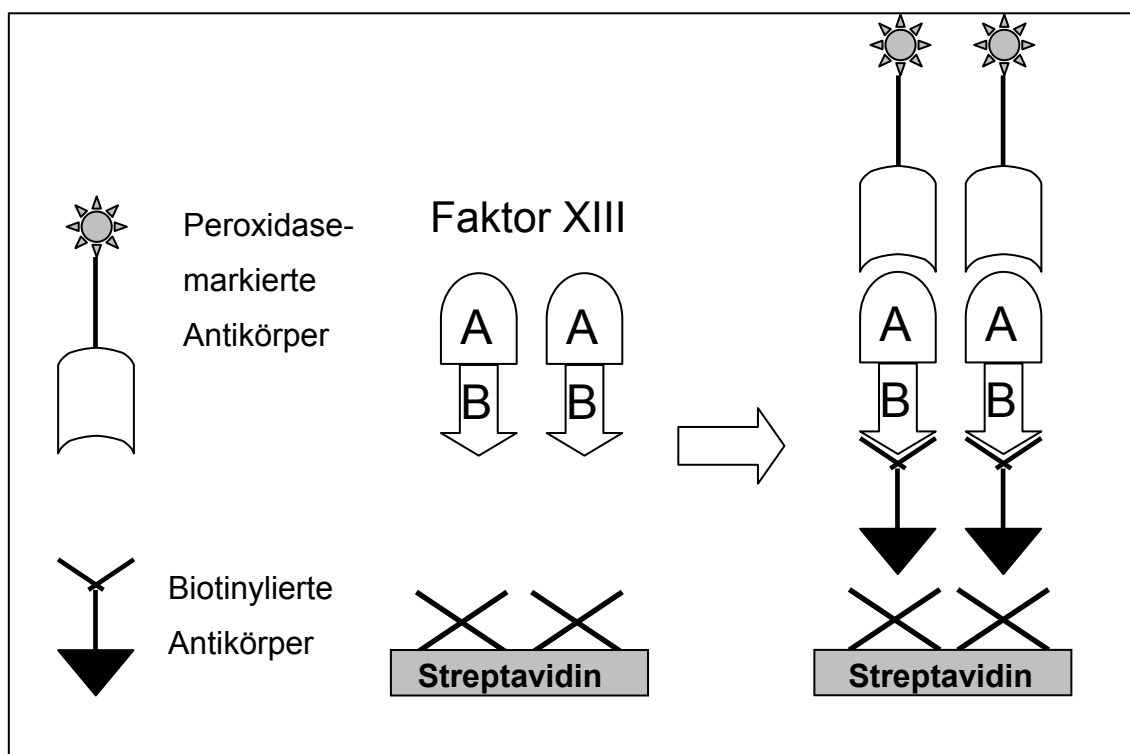


Abb. 5 Einschnitt Sandwich-ELISA zur Diagnostik des Faktor XIII (nach Katona et al. 2000).

2.3.6.2 Thrombelastographie und ROTEM®

Die Thrombelastographie wurde 1948 von Hartert in Heidelberg entwickelt (Hartert 1948).

Über diese Methode konnte 1969 von McDonagh et al. eine entscheidende Rolle plättchengebundenen Faktors XIII auf die Entstehung eines stabilen Thrombus nachgewiesen werden (McDonagh et al. 1969).

Eine Weiterentwicklung dieses Verfahrens stellt das ROTEM® System der Firma Pentapharm dar, entwickelt Mitte der 90er Jahre in München. Dabei wird die Blut- oder Plasmaprobe in eine Küvette pipettiert in die ein Stempel hineinragt. Es verbleibt ein Spalt von ca. 1 mm. Der Stempel rotiert alternierend um eine Längsachse von 4,5°, was bei steigender Gerinnselbildung und -festigkeit zu stärkeren Widerständen führt. Die Inhibition der Stempelbewegung wird zeitabhängig registriert und liefert über verschiedene computergestützte Umrechnungen das Bild des Thrombelastogramms. Beim klassischen Thrombelastogramm nach Hartert wird die Messung durch die oszillierende Küvette vorgenommen, während der Stempel frei an einem dünnen Draht befindet. Daher ist diese Methode stoßanfalliger.

Während des ROTEM® Messverfahrens werden verschiedene kinetische Parameter der Gerinnselbildung und -lyse, sowie die maximale Clotfestigkeit bestimmt. Durch ROTEM® können daher wichtige peri- und postoperative Parameter der Gerinnung registriert und indirekt Rückschlüsse auf das Vorhandensein von Faktor XIII gezogen werden (Wilmer et al. 2002, Vance G. Nielsena und Holmanb 2007, Weber et al. 2008, Spalding et al. 2007, Reinhöfer 2007).

Nugent untersuchte 2006 die Gerinnseigenschaften von Patienten mit einem Faktor XIII-Defizit mittels Thrombelastographie. Diese sind gekennzeichnet durch eine schwächere und langsamere Gerinnselbildung. Weiterhin ist der Clot instabiler und kann schneller abgebaut werden. Nach Substitution mit einem Faktor XIII- Konzentrat (Fibrogammin®P) resultierte eine Normalisierung der Thrombuseigenschaften (Nugent 2006).

2.3.6.3 Bestimmung der enzymatischen Aktivität des Faktor XIII

Fickenscher et al. beschrieben Anfang der 90er Jahre eine photometrische Testmethode zur Faktor XIII-Aktivitätsbestimmung. Genutzt wird hierbei die Transglutaminase-Reaktion von Faktor XIII (Wagner et al. 1994). Die Aktivierung von Faktor XIII erfolgt unter Vorhandensein von Ca^{2+} und Thrombin in einer Citratplasmaprobe. Eine Gerinnselausbildung durch Thrombin wird durch Zugabe eines aggregationshemmenden Peptids (Gly-Pro-Arg-Pro-Ala-Amid) ausgeschlossen. Faktor XIIIa bewirkt die Verknüpfung eines synthetischen Peptids (β -Casein) mit Glycinethylester unter Ammoniakfreisetzung. Ammoniak katalysiert die Umsetzung von NADH^+ und α -Ketoglutarat zu NAD^+ und Glutamat. Gemessen wird die Extinktionsabnahme bei 340 nm bedingt durch den NADH-Verbrauch. Hierzu proportional verhält sich die Faktor XIIIa-Aktivität (Wilmer et al. 2002). Modifiziert und optimiert wurde dieser Test durch Kárpáti et al. durch Verwendung eines α_2 -Antiplasmin-Substrates (Karpáti et al. 2000).

Eine Alternative dieses Testverfahrens bietet das kommerziell erhältliche Pefakit[®] Faktor XIII Incorporation Assay. Anstelle des β -Caseins wird Fibrinogen an Mikrotiterplatten gebunden (Song et al. 1994). Faktor XIII wird über Thrombin aktiviert und bindet das Substrat 5-Biotinamidopentylamin (BAPA) an Fibrinogen. Inkorporiertes BAPA wird über Streptavidin/alkalische Phosphatase markiert und über die Extinktion bei 405 nm bestimmt. Die bestimmte inkorporierte BAPA-Menge ist proportional zur Faktor XIII-Aktivität. Dieses Testverfahren lässt außerdem Rückschlüsse auf ein Vorhandensein des Faktor XIII-Val34-Leu-Polymorphismus zu.

Eine weitere Möglichkeit der Faktor XIII-Aktivitätsbestimmung bietet die Isopeptidase-Aktivität des Faktor XIII. Dabei wird von einer Peptidsequenz ein fluoreszierendes Molekül abgespalten und Wasser oder ein primäres Amin in ein Glutaminsubstrat eingebaut. Als Fluorophor werden N-[5-(Dimethylamino)-1-naphtalin-sulfonsäure] oder 2-Aminobenzoyl verwendet. Faktor XIII spaltet die quenchende Molekülgruppe von der Seitenkette ab. Gemessen wird dann die zunehmende Fluoreszenz im Ansatz, die sich proportional zur Faktor XIII-Aktivität verhält (Parameswaran et al. 1997). Nachteilig bei dieser Testvariante ist, dass die verwendeten Konzentrationen von Faktor XIII (0,5-0,8 μM) weit unter physiologisch vorkommenden Konzentrationen liegen (~50 nM Plasma Faktor

XIII). Durch Austausch des Peptidsubstrates gegen ein dunkel quenches Molekül [bz-NE(Cad-Dnp)EQVSPLTLLK] gelang es, ein hochsensitives fluorometrisches Verfahren zu schaffen, welches auch Faktor-XIII-Konzentrationen von Patienten mit Faktor-XIII Defiziten in Bereichen von 0,05 IU/ml (~2,5 nM) aufzeigt (Oertel et al. 2007).

In der vorliegenden Arbeit wurde das Fluorescent Factor XIII Assay, Zedira GmbH Darmstadt verwendet, welches ebenfalls auf die Isopeptidase-Aktivität von Faktor XIII zurückgreift.

3. Aufgabe und Zielstellung

Der Gerinnungsfaktor XIII (Fibrin Stabilisierender Faktor) stellt einen essentiellen Bestandteil der sekundären Hämostase dar und ist maßgeblich für die stabilisierende Quervernetzung eines entstandenen Thrombus verantwortlich.

In einer retrospektiven Studie sollen daher eigene Daten herzchirurgischer Patienten am Universitätsklinikum der Friedrich-Schiller-Universität Jena gewonnen werden. Hierzu erfolgt die Untersuchung der in Abb.1 aufgeführten Variablen auf die Gerinnselfestigkeit in ROTEM® und den postoperativen Blutverlust bei kardiochirurgischen Patienten.

Ziel dieser Arbeit ist es dabei zu zeigen,

1. ob die Faktor XIII-Aktivität im Plasma postoperativ abnimmt,
2. ob eine niedrige Faktor XIII-Aktivität mit einem postoperativen Blutverlust korreliert und
3. inwiefern eine ausreichende Faktor XIII-Aktivität notwendig ist, um eine stabile Clotfestigkeit zu erzielen.

Untersucht werden Daten kardiochirurgischer Patienten einer Beobachtungsstudie, in der prä-, peri- und postoperativ zahlreiche hämostaseologische, hämatologische und klinische Variablen sowie die Festigkeit eines in-vitro gebildeten Gerinnsel mittels ROTEM® bestimmt wurden. Zusätzlich wird in vorhandenen Plasmaproben der Patienten die Aktivität des Faktor XIIIa mittels eines Fluoreszenz-Assays vermessen und in die Auswertung einbezogen. Weiterhin soll der Zusammenhang zwischen der Clotfestigkeit in ROTEM® und der Faktor XIII-Aktivität untersucht werden. Aussagen zur Fibrinolyse werden dabei nicht über klassische Parameter wie Fibrinospaltprodukte oder D-Dimere getroffen. Hinweise für eine Hyperfibrinolyse sind aber auch aus den ROTEM®-Daten ersichtlich. Der Einfluss der Hämodilution auf hämostaseologische Parameter wird anhand der perioperativen Veränderungen des Hämatokrits und der Hämoglobinkonzentration ermittelt.

4. Material und Methoden

4.1 Patientenselektion

Bei der vorliegenden retrospektiven Studie wurden Citratplasma Proben von 99 Patienten auf Faktor XIII-Aktivität vermessen, die sich einer kardiochirurgischen Operation an der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie am Universitätsklinikum der Friedrich-Schiller-Universität Jena unterzogen haben. Die verwendeten Plasma Proben wurden 2005 im Rahmen der Dissertation von Dr. Mike Reinhöfer, „Untersuchungen zur diagnostischen Wertigkeit der Rotationsthrombelastometrie für die Erkennung von Hämostasesstörungen bei Patienten mit kardiopulmonalen Bypass“, unter folgenden Einschlusskriterien ermittelt:

1. Operationen am offenen Herzen,
2. perioperativer Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine und
3. einer Mindestdauer von 45 Minuten extrakorporaler Zirkulation.

Es lag ein positives Votum der Ethikkommission vor. Als Ausschlusskriterien wurden fehlende Aufklärung bzw. Einverständniserklärungen der Patienten, Notfalloperationen und ein Lebensalter der Patienten unter 18 Jahren festgelegt.

4.2 Messzeitpunkte und Probengewinnung

Im Studiendesign wurden drei Messzeitpunkte festgelegt, zu denen eine Blutentnahme mit Herstellung einer Rückstellplasma Probe für die Faktor XIII-Aktivitätsbestimmung erfolgte. Direkt präoperativ erfolgte die erste Blutentnahme für die Bestimmung der aktivierten Gerinnungszeit, der Blutgasanalyse und der präoperativen ROTEM®-Analyse. Weitere präoperative Laborparameter wurden einen Tag vor dem Operationstermin durch das Zentrallabor des Universitätsklinikums Jena vermessen.

Eine zweite Blutentnahme erfolgte direkt nach Eintreffen der Patienten auf der Intensivstation zur Bestimmung direkt postoperativer Laborwerte und ROTEM®-Analyse. 18 Stunden postoperativ erfolgte die dritte Blutentnahme. Hier wurden selbige Laborparameter erhoben.

Die Blutproben für die Faktor XIII-Bestimmungen wurden unter aseptischen Bedingungen durch das Anästhesieteam bzw. Kardiotechniker aus der Arteria radialis entnommen. Dabei sind 5,0 ml Sarstedt-Monovetten® mit 0,5 ml Natriumcitrat verwendet worden. Nach 5 minütiger Zentrifugation bei 5000 U/min bei 20°C wurde gewonnenes Citratplasma in Eppendorff- Tubes® pipettiert und bei -80°C eingefroren.

4.3 Messverfahren

Zur Vermessung der Faktor XIII-Aktivität wurde das Fluorescent Factor XIII Assay der Firma Zedira GmbH Darmstadt verwendet. Dieses nutzt, wie unter Abschnitt 2.3.6.3 beschrieben, die Isopeptidaseaktivität des Faktor XIII.

In den Citratplasma-proben enthaltener Faktor XIII wird durch Thrombin in Faktor XIIIa umgewandelt. Gleichzeitig erfolgt durch Thrombin die Bildung von Fibrin aus Fibrinogen. Die Koagulation wird durch ein Inhibitionspeptid verhindert. Faktor XIIIa spaltet ein sog. „dark quenching molecule“, welches zunächst Fluoreszenzlicht auslöscht, von der Seitenkette eines modifizierten Peptids des Assays ab. Durch diesen Prozess kann nun die Fluoreszenz eines N-terminal gekoppelten Farbstoffes ansteigen und durch ein Spektrometer vermessen werden. Der Anstieg der Fluoreszenzänderung verhält sich proportional zur Faktor XIII-Aktivität.

4.4 Messablauf

Für den Messdurchlauf werden ein Mikrotiterplatten Fluorometer, das Fluorescent Factor XIII Assay der Firma Zedira GmbH Darmstadt und ein Computer mit entsprechender Software des Fluorometers benötigt. Die Reagenz-Mixtur wurde entsprechend Zedira Testanleitung aus Substratreagenz, Aktivatorreagenz und Pufferreagenz hergestellt. Das hier verwendete Fluorometer FluoStar Optima F[®], stammt von der Firma BMG Labtech, Ortenberg. Nach Kalibrierung des Fluorometers durch Vermessung von Standardplasma-Proben wurde die Extinktionswellenlänge auf 320 nm, die Emissionswellenlänge auf 460 nm festgelegt.

Zu Beginn jeder Testreihe wurden die Plasma-Proben in einem Thermomixer über eine Stunde auf 37°C erwärmt. Ebenso wurde die Reagenz-Mixtur auf 37°C vorgewärmt und anschließend gevortext. Von den zu vermessenden Plasma-Proben wurden in 96-well Mikrotiterplatten je 20 µl pipettiert und 150 µl Reagenz-Mixtur zügig mit einer Pipette zugegeben. Zur Qualitätssicherung wurde zur Pipettierung eine Multipipette der Firma Eppendorf verwendet. Jede Plasma-Probe wurde simultan doppelt vermessen. Die Vermessung erfolgte immer durch dieselbe Person. Die Plasma-Proben wurden über eine Stunde in 60 Zyklen im Fluorometer vermessen, in Microsoft Excel übertragen und die mittelwertigen Anstiege bestimmt. Anstieg und Faktor XIII-Aktivität verhalten sich proportional. Der Normbereich für die Faktor XIII-Aktivität liegt bei 70 bis 140 %.

Die absoluten Aktivitäten des Faktor XIII und der weiteren bestimmten Gerinnungsparametern wurden der Hämodilution nach folgender Formel angepasst:

$$\text{Normierter Wert zum Messzeitpunkt} = \text{absoluter Wert zum Messzeitpunkt} \times (\text{präoperativer Hämatokrit} / \text{aktueller Hämatokrit zum Messzeitpunkt})$$

4.5 Datenerfassung

Aus den Patientenakten wurden bestehende Krankheiten und Medikationen der Patienten entnommen. Ebenso konnten aus Anamnese- und detailliertem Gerinnungsfragebogen spezifische Informationen über bekannte Gerinnungsstörungen der Patienten erfasst und demografische Daten erhoben werden. Perioperative Protokolle fixierten operationsinterne Daten wie Dauer der Operation, Narkose- und Anästhesieverfahren und registrierten die zeitliche Inanspruchnahme der extrakorporalen Zirkulation, der Ischämie und Anästhesie. Weiterhin wurde über die intraoperative Transfusions- und Medikamentengabe berichtet.

Der postoperative Blutverlust und die anschließende Medikation auf der Intensivstation wurden mittels elektronischer Patientenakte der Intensivstation (COPRA) erfasst. Zusätzliche Laborwerte wurden durch das Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der Friedrich-Schiller-Universität Jena bestimmt. Die Messung der ROTEM®-Parameter erfolgte im Rahmen der Dissertation von Dr. Mike Reinhöfer an der Friedrich-Schiller-Universität Jena.

Für diese Studie wurden die Testansätze EXTEM und FIBTEM der ROTEM®-Analyse verwendet.

Im EXTEM wird durch Zugabe von Tissue factor die Gerinnung aktiviert. Es ermöglicht die Beurteilung der Gerinnungsfaktoren VII, X, V, II, I, der Thrombozyten und der Fibrinolyse.

Im FIBTEM wird durch die Zugabe von Cytochalasin die Thrombozytenfunktion gehemmt. Durch FIBTEM lassen sich dadurch direkt Rückschlüsse auf den Fibrinogenspiegel und die Fibrinpolymerisation ziehen.

Die im ROTEM® ebenfalls einsetzbaren Testansätze INTEM, APTM und HEPTM wurden in diese Studie nicht mit einbezogen.

Die folgenden ROTEM[®]-Parameter wurden für diese Studie verwendet (Abb.6).

- **CT** = Clotting Time, in Sekunden (Normwert: 35-79 s),
ist die Zeitspanne bis zur Initiierung der Gerinnung.

- **CFT** = Clot Formation Time, in Sekunden (Normwert: 35-159 s)
Die Zeitspanne bis das Gerinnsel eine Festigkeit von 20 mm erreicht hat. Die Clotstabilisierung durch den Faktor XIII und die Thrombozyten wird dargestellt.

- **MCF** = Maximum Clot Firmness, in Millimeter
(EXTEM Normwert: 53-72 mm; FIBTEM Normwert: 8 -25 mm)
Die maximale mechanische Festigkeit des Clots, die ebenfalls Rückschlüsse auf Faktor XIII-Aktivität und Thrombozyten zulässt.

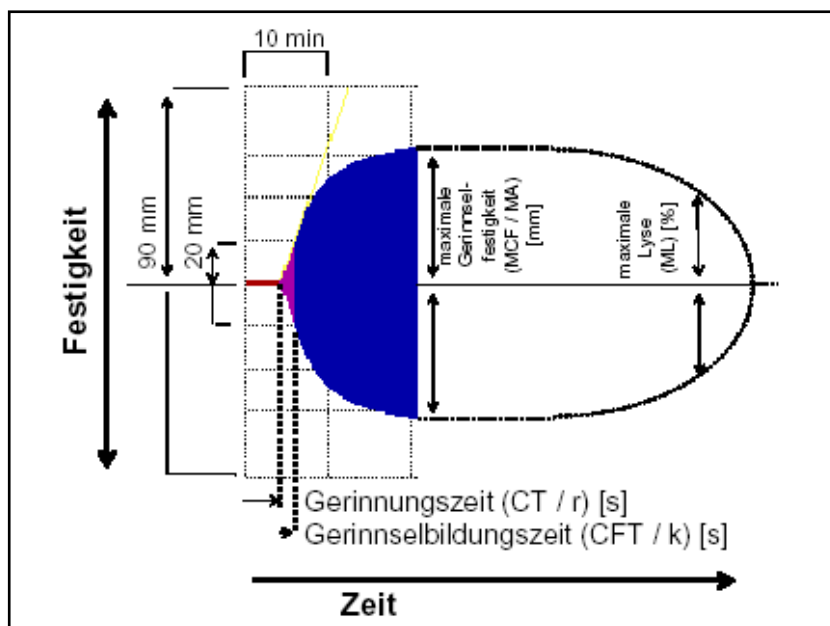


Abb. 6 Parameter der ROTEM[®] Analyse (Calatzis et al. 2005).

4.6 Operationsspezifische Standards

4.6.1 Anästhesie

Eine Prämedikation der Patienten erfolgte klinikintern am Operationsvorabend mit Dikaliumclorazepat und am Operationstag 90 Minuten vor Einleitung der Narkose durch orale Verabreichung von Midazolam. Es erfolgte ein routinemäßiges Standardmonitoring (Blutdruckmessung, Messung der Sauerstoffsättigung, Elektrokardiogramm). Die Narkoseeinleitung erfolgte nach Präoxygenierung mit Sauerstoff durch intravenöse Gabe von Midazolam sowie Sufentanil, intraoperativ nach Start der extrakorporalen Zirkulation, wurde die Narkose mit Propofol und Sufentanil oder Remifentanil durchgeführt. Als Muskelrelaxans wirkte Pancuronium vor Durchführung der Intubation. Die Beatmung wurde mit einem Luft-Sauerstoff-Gemisch und positivem endexpiratorischem Druck (PEEP) durchgeführt. Intraoperativ erfolgte das Monitoring von arteriellem Blutdruck, des pulmonalarteriellen Druckes und zentralem Venendruck, wobei Letzteres entscheidend für eine Volumentherapie war. Als kolloidale Lösungen wurde Voluven-6 %[®], als kristalloide Lösungen wurden 0,9 % NaCl-, Ringer-Acetat- und Ringer-Lactat-Lösungen verwendet.

Verlegung und weitere postoperative Behandlung intubierter, kontrolliert beatmeter Patienten auf die Intensivstation erfolgte nach weiteren klinikinternen Standards.

4.6.2 Gerinnungsmanagement

Als Antikoagulanz wurde Heparin unter Kontrolle der Aktivierten Gerinnungszeit (ACT) verwendet und ggf. erneut appliziert oder bei Messungen unter 420 Sekunden durch Antithrombin III ergänzt. Zur Vermeidung einer reaktiven Hyperfibrinolyse erhielten die Patienten je nach Art der Operation und patientenspezifischen Risiken, wie z.B. der Einnahme von Thrombozytenaggregationshemmern in den letzten sechs Tagen vor der Operation, abgestimmt, Aprotinin. Nach Beendigung der extrakorporalen Zirkulation mittels Herz-Lungen-Maschine wurde Heparin im Verhältnis 1:1 durch

Protamin antagonisiert. Die Indikation zur perioperativen Transfusion von Blutprodukten wurde individuell durch den Anästhesisten gestellt.

Postoperative Leitlinien zur Gabe von Blutprodukten galten patientenspezifisch angepasst wie folgt: sank der Hämoglobinwert unter 4,5 mmol/l oder traten Blutungen auf, war die Verabreichung von leukozytendepletierten Erythrozytenkonzentraten indiziert. Bei Auftreten von Blutungen oder eines Absinkens der Thrombozytenzahl unter 50 Gpt/l wurden Thrombozytenapharesekonzentrate transfundiert. Die Transfusion gefrorenen Frischplasmas (FFP) wurde bei einem Quick-Wert unter 50 %, einer Fibrinogenkonzentration unter 1,8 g/l oder einer Verlängerung der aPTT über 60 Sekunden vorgenommen. Bei kritischen Blutungssituationen galten weitere interne Reglements der Hämotherapie.

4.6.3 Extrakorporale Zirkulation

Die extrakorporale Zirkulation an der Herz-Lungen-Maschine SIII der Firma Stöckert erfolgte unter Verwendung von Membranoxygenatoren unter leichter Hypothermie (34°C). Die Priminglösung entsprach den üblichen Standards. Der Sollfluss betrug mindestens 2,5l/min/m², der Perfusionsdruck lag individuell variiert zwischen 50 und 80 mmHg. Nach Thorax- und anschließender Perikarderöffnung erfolgte die Kanülierung der Aorta ascendens und des rechten Vorhofs, anschließend die Abklemmung der Aorta ascendens. Nach Separation des Herzens von der Blutzirkulation erfolgte eine antegrade Blutkardioplegie durch die der Herzstillstand erzielt wurde. Die Kardioplegielösung wurde durch den Wärmeaustauscher auf 4°C gekühlt und im Verhältnis 4:1 mit Blut gemischt. Hierbei wurde das Kardioplegieverfahren nach Buckberg oder das Calafiore Protokoll modifiziert nach Caputo angewendet.

Nach Beendigung der extrakorporalen Zirkulation wurde das dynamische Füllvolumen ohne Aufbereitung den Patienten zurückgeführt.

4.7 Statistische Methoden

Die statistische Analyse der vorliegenden Daten wurde mit dem Programm MEDAS (Fa. Ch. Grund, Margetshöchheim) durchgeführt.

Zur Beschreibung der Ergebnisse dieser retrospektiven Studie wurde zunächst eine deskriptive Auswertung vorgenommen. Kategorisierte Daten werden in prozentualer Häufigkeit, Mittelwert (MW) und Standardabweichung (ST) berichtet. Ebenso wird der Median [Minimaler Wert; Maximaler Wert] mit dem 68 %-CI (Konfidenzintervall) des Medians angegeben. Ein Konfidenzintervall wurde berechnet, um die Güte der Schätzwerte zu beurteilen. Ein 68 %-Konfidenzintervall gibt den Bereich an, der mit 68 %-iger Wahrscheinlichkeit den ermittelten Parameter überdeckt. Zur Überprüfung auf eine Gaußsche Normalverteilung wurde die Probitdarstellung mit den Grenzen nach Liliefors verwendet. Um die Testergebnisse quantitativ vergleichen zu können, wurden Signifikanztests durchgeführt. Es wurden p-Werte berechnet, wobei ein p-Wert unter 0,05 als signifikant angesehen wird (konventionelles Signifikanzniveau von 5 %). Zur Beschreibung der Abhängigkeit zwischen zwei klassifizierten Variablen wurde im Allgemeinen der Chi-Quadrat-Test nach der Maximum-Likelihood-Methode berechnet. Mit dem U-Test nach Mann und Whitney wurde ein kontinuierlicher Messwert zwischen zwei Gruppen verglichen, da keine Gaußsche Normalverteilung der Messwerte angenommen werden konnte. Vorgenommene Korrelationsanalysen wurden mit der Kendallschen Rangkorrelation, mit dem Koeffizienten tau (τ) durchgeführt. Die Rangkorrelation nach Kendall beschreibt die Abhängigkeit von zwei Messwerten und setzt keine Gaußsche Normalverteilung voraus. Dieses Verfahren ist unempfindlich gegenüber Rangbindungen. Zur Beschreibung des Einflusses von mehreren Prediktoren auf ein Kriterium, wurde ein multiples lineares Regressionsmodell verwendet. Es erfolgte ein schrittweiser Variablenausschluss. Angegeben werden der multiple Korrelationskoeffizient r mit seinem p-Wert, der zur Beurteilung der Güte der Vorhersage und damit des Grades der Abhängigkeit des Kriteriums von den Prediktoren dient (Haubitz 1995).

5. Ergebnisse

5.1 Patientencharakteristik

5.1.1 Alter und Geschlecht

Die vorliegende Studie umfasst 99 Patienten im Alter von 31 bis 83 Jahren (vollendete Lebensjahre). Das mittlere Alter betrug $66,1 \pm 9,8$ Jahre, der Altersmedian lag bei 67,0 Jahren. 64 Patienten (65 %) waren männlich, 35 (35 %) weiblich (Abb.7).

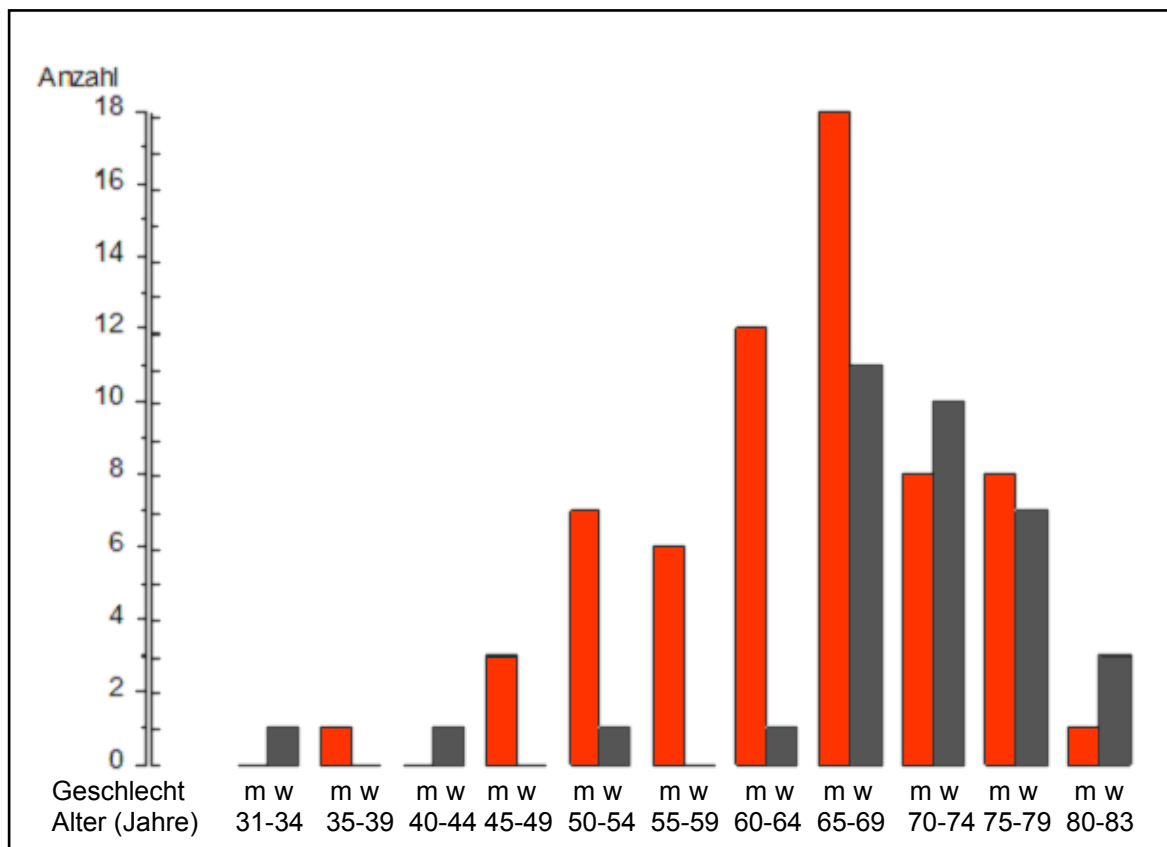


Abb. 7 Alter (Jahre) und Anzahl (99) der Patienten, getrennt nach Geschlecht (*m=männlich*, *w=weiblich*) und Altersgruppen.

5.1.2 Risikofaktoren kardiovaskulärer Erkrankungen

Sieben Patienten waren Raucher, 92 waren Nichtraucher. Der mittlere Body-Maß-Index (BMI) betrug $27,7 \pm 4,3 \text{ kg} \times \text{m}^{-2}$. Die Hälfte der Patienten hatte einen BMI über $27 \text{ kg} \times \text{m}^{-2}$ [24,0; 31,0]. Die meisten Patienten hatten leichtes Übergewicht. Von Adipositas kann man bei ca. 25 % der Patienten sprechen. Details der Risikofaktoren sind Tab. 1 zu entnehmen.

Tab. 1 Rauchgewohnheiten und Body-Maß-Index (BMI [$\text{kg} \times \text{m}^{-2}$]). Anzahl (n) und Prozentsatz (%) der 99 Patienten.

	n	%
Raucher		
Ja	7	7,1
Nein	92	92,9
BMI		
Normalgewicht (19,5-24,9)	23	23,2
Übergewicht (25-29,9)	52	52,5
Adipositas I (30-34,9)	16	16,2
Adipositas II (35-39,9)	5	5,1
Adipositas permagna (40 und mehr)	3	3,0

5.1.3 Haupt- und Nebendiagnosen

Als Hauptdiagnosen galten bei 64 % der Patienten koronare Herzkrankheit, sowie bei 23 % der Patienten Aortenklappenvitien und 17 % Mitralklappenvitien. Fünf Patienten hatten nur eine Hauptdiagnose (ohne Nebendiagnose). Als häufige Nebendiagnosen wurden arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus und Hyperlipoproteinämie dokumentiert. Keine Nebendiagnosen wiesen nur sieben Patienten auf. Durchschnittlich hatten 68 % der Patienten eine Gesamtzahl von drei bis fünf Diagnosen (Tab. 2).

Tab. 2 Haupt- und Nebendiagnosen. Anzahl (n) und Prozentsatz (%) der Patienten.

	n	%
Hauptdiagnose		
Koronare Herzkrankheit	63	63,6
Aortenklappenvitium	23	23,2
Mitralklappenvitium	17	17,2
Trikuspidalklappenvitium	2	2,0
Aortenaneurysma	8	8,1
Herzwandaneurysma	1	1,0
Infektion Schrittmacherbett	2	2,0
Vorhofmyxom	4	4,0
Endokarditis	2	2,0
Kardiomyopathien	1	1,0
Perikarditis	3	3,0
Septumdefekte	2	2,0
RIVA Fistelung	1	1,0
Hämostasestörungen	9	9,1
Nebendiagnose		
arterielle Hypertonie	61	61,6
Diabetes mellitus	37	37,4
Hyperlipoproteinämie	42	42,4
Hyperurikämie	5	5,1
COPD	11	11,1
pulmonale Hypertonie	9	9,1
chronische Niereninsuffizienz	13	13,1
Hyperthyreose	7	7,1
Hypothyreose	7	7,1
pAVK	2	2,0
Hepatitis	2	2,0
Osteoporose	6	6,1
Varikosis	3	3,0
PM Implantat	2	2,0
benigne Prostatahyperplasie	3	3,0
Anämie	2	2,0
Thyreoiditis	3	3,0
Autoimmunthrombopenie	2	2,0

Je älter die Patienten waren, desto mehr Hauptdiagnosen lagen vor ($\tau = 0,16$, $p < 0,05$ in der Kendallschen Rangkorrelation). Die männlichen Patienten hatten weniger, aber nicht signifikant weniger, Nebendiagnosen (im Mittel $1,9 \pm 1,3$) als die Patientinnen. Diese hatten im Mittel $2,2 \pm 1,1$ Nebendiagnosen ($p = 0,079$ im U-Test nach Mann und Whitney).

5.1.4 Gerinnungshemmende Medikation

59 Patienten gaben an, täglich Thrombozytenaggregationshemmer einzunehmen. Mehrheitlich wurde mit Acetylsalicylsäure (ASS) 100 mg/d therapiert. Des Weiteren erfolgte bei einem geringeren Teil der Patienten die Einnahme von 75 mg/d Clopidogrel. Details sind in Tab. 3 zusammengefasst.

Tab. 3 Gerinnungshemmende Medikation Anzahl (n) und Prozentsatz (%) der Patienten mit täglicher Einnahme von Thrombozytenaggregationshemmern.

	n	%
Thrombozytenaggregationshemmer		
Ja	59	59,6
nein	40	40,4
Substanz		
ASS 100 mg/d	37	64,9
Clopidogrel 75 mg/d	6	10,5
ASS unter 100 mg/d	2	3,5
ASS 100 mg/d + Clopidogrel 75 mg/d	12	21,1
<i>fehlende Angabe</i>	2	—

5.2 Operationsspezifische Daten

5.2.1 Operationstypen

Mehrheitlich wurden Bypass-Operationen (64 %) und Myokardeingriffe (10 %) durchgeführt, gefolgt von Klappenoperationen (9 %) und Rekonstruktionen der Aorta und des Aortenbogens (5 %). 23 % der durchgeführten Operationen stellten Kombinationen aus den genannten Eingriffen dar (Abb. 8).

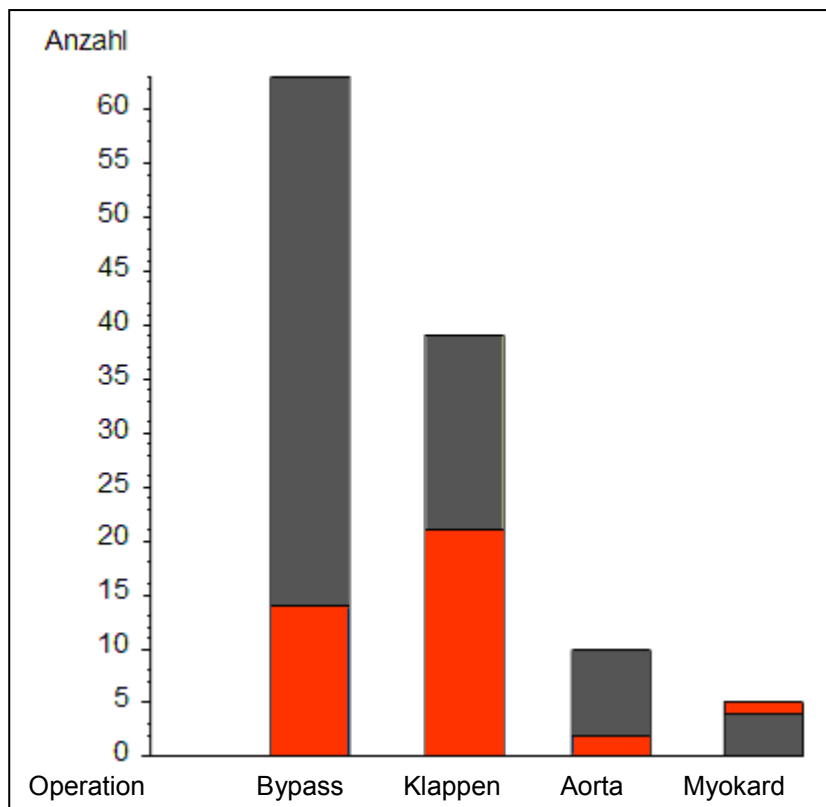


Abb. 8 Dargestellt ist die Anzahl der Operationstypen. Die Säulen sind nach einfacher (■) und kombinierter (■) Operation unterteilt.

5.2.2 Antikoagulation

Eine präoperative Antikoagulation erhielten insgesamt 98 Patienten. Dabei wurden 39 % der Patienten Clexane 0,4 ml und 15 % Clexane 0,8 ml subkutan injiziert. Bei 45,9 % der Patienten wurde eine Antikoagulation über einen Heparinperfusor (2-3 ml/h) durchgeführt.

Intraoperativ wurden durchschnittlich 35.581 IE Heparin (20.000 – 70.000 IE), 1,2 Millionen IE Aprotinin (1Mio – 4Mio IE) und 36.207 IE Protamin (20.000 – 75.000 IE) verabreicht. Postoperativ kam es bei 17 % der Patienten (n=17) zu einer Gabe von insgesamt 22,8 Millionen IE Aprotinin (0,5 Mio – 3 Mio IE).

12 Patienten erhielten 14-18 Stunden nach der Operation Protamin. Im Durchschnitt wurden 3500 IE Protamin (2000 bis 7500 IE) injiziert.

5.2.3 Operationsspezifische Zeiten

Die Operationszeit (Schnitt-Naht-Zeit) variierte zwischen einer Stunde 23 Minuten bis zu sieben Stunden und acht Minuten. Es resultierte daraus eine durchschnittliche Operationszeit von drei Stunden und 39 Minuten. Die Dauer der extrakorporalen Zirkulation belief sich minimal auf 45 Minuten und maximal auf fünf Stunden und 15 Minuten. Die durchschnittliche Anästhesiezeit betrug fünf Stunden und sechs Minuten die durchschnittliche Ischämiezeit eine Stunde und zwei Minuten. Weitere Details sind in Tab. 4 beschrieben.

Tab. 4 Operationsspezifische Zeiten in Stunden (h). Angegeben sind Mittelwert (MW), Standardabweichung (ST), Median, Minimum (Min) und Maximum (Max).

Dauer [h]	n	MW	ST	Median	Min	Max
Anästhesiedauer						
	94	5,1	1,2	5,1	2,7	9,3
Schnitt-Naht-Zeit						
	94	3,7	1,1	3,6	1,4	7,1
Bypassdauer						
	96	1,8	0,8	1,6	0,8	5,3
Ischämiezeit						
	95	1,1	0,5	1,0	0,3	3,3

5.2.4 Perioperative Transfusion von Blutprodukten, Plasmaderivaten sowie Flüssigkeits- und Volumentherapie

Perioperativ wurden 51 % (n=51) der Patienten transfusionsbedürftig. 45 Patienten erhielten mindestens ein Erythrozytenkonzentrat. Maximal wurden einem Patienten intraoperativ acht Erythrozytenkonzentrate verabreicht. Durchschnittlich erhielt jeder transfundierte Patient 2,64 Erythrozytenkonzentrate. Die Patienten die intraoperativ Erythrozytenkonzentrate erhielten, waren signifikant älter, $69,5 \pm 9,0$ Jahre, als 54 Patienten ohne Erythrozytenkonzentrat, die im Mittel $63,2 \pm 9,7$ Jahre alt waren ($p < 0,001$ im U-Test nach Mann und Whitney). Von den männlichen Patienten erhielten ca. 1/3 Erythrozytenkonzentrate, von den Patientinnen fast 2/3 ($p < 0,01$, p aus dem Chi-Quadrat-Test). 31 % der Patienten die bereits ein Erythrozytenkonzentrat infundiert bekommen hatten, erhielten zusätzlich ein Thrombozytenkonzentrat. Im Durchschnitt wurden den insgesamt 17 Patienten die ein Thrombozytenkonzentrat bezogen hatten, 1,4 Thrombozytenkonzentrate infundiert. 15 Patienten erhielten während der Operation gefrorenes Frischplasma (FFP). Durchschnittlich wurden 3,9 Konserven verabreicht. Im Maximum wurden einem Patienten 16 Konserven, darunter acht Erythrozytenkonzentrate, zwei Thrombozytenkonzentrate und sechs FFP Konserven, verabreicht. Weiterhin wurden 3 % der Patienten insgesamt 3500 IE Antithrombin III injiziert.

Im Rahmen der Flüssigkeits- und Volumentherapie wurden durchschnittlich 1961 ml kristalloider Lösung und 537 ml kolloidaler Lösung verabreicht. Kolloidale Lösung erhielten 34 % der Patienten. Maximal erhielt ein Patient 5000 ml kristalloider Lösung. Weitere Details sind Tab. 5 zu entnehmen.

5.2.5 Postoperative Transfusion von Blutprodukten, Plasmaderivaten sowie Flüssigkeits- und Volumentherapie

Postoperativ wurden 40 % der Patienten mit Transfusionsprodukten behandelt. 32 % (n=32) der Patienten wurden 14 bis 18 Stunden nach der Operation mit Erythrozytenkonzentraten versorgt, darunter 22 Patienten die perioperativ bereits mindestens ein Erythrozytenkonzentrat erhalten hatten. 18 Patienten bekamen mindestens ein Thrombozytenkonzentrat. Maximal wurden drei Konzentrate verabreicht. 24 Patienten erhielten durchschnittlich 4,5 FFP-Konzentrate. Ein Patient erhielt 4 Ampullen lyophilisiertes Plasma. Während des postoperativen Beobachtungszeitraumes wurden über 96 % der Patienten kristalloide sowie kolloidale Lösung infundiert. Durchschnittlich wurden postoperativ 1248 ml kristalloide und 1138 ml kolloidale Lösung verabreicht (Tab. 5).

5.2.6 Postoperativer Blutverlust

Der postoperative Blutverlust wurde durch Messung des Thoraxdrainagevolumens bestimmt. Durchschnittlich lag dieser bei 657 ml. Als Höchstwerte wurden bei zwei Patienten 1700 ml und 1740 ml erfasst. Der geringste postoperative Blutverlust lag bei 100 ml (Tab. 5).

Tab. 5 Intra- und postoperative Hämotherapie und postoperativer Blutverlust. (MW = Mittelwert, ST = Standardabweichung, CI = Konfidenzintervall, EK= Erythrozytenkonzentrat, TK= Thrombozytenkonzentrat, FFP= Fresh Frozen Plasma, AT III = Antithrombin III, n = Anzahl der Patienten.

	n	MW	ST	Median	68%-CI		Min	Max
intraoperativ								
Heparin (IE)	99	35.818	8.001	35.000	30.000	40.000	20.000	70.000
Protamin (IE)	99	36.207	7.998	35.000	30.000	45.000	20.000	75.000
Aprotinin (IE)	99	1,2	0,8	1,0	500,0	2,0	0,5	4,0
Kristalloide (ml)	99	1.961	681	1.800	1.500	2.500	500	5.000
Kolloide (ml)	34	566	188	500	500	500	250	1.000
EK (Stck.)	45	2,6	1,6	2,0	1,0	4,0	1,0	8,0
TK (Stck.)	17	1,4	0,5	1,0	1,0	2,0	1,0	2,0
FFP (Stck.)	15	3,9	1,2	4,0	2,4	4,0	2,0	6,0
Antithrombin III (IE)	3	1.167	289	1.000	1.000	1.341	1.000	1.500
postoperativ								
Blutverlust (ml)	99	657	356	525	366	1.078	100	1.740
Heparin (IE)	35	1.954	2.081	1.200	400	4.409	200	7.500
Protamin (IE)	12	3.500	1.706	2.500	2.500	5.000	2.000	7.500
Aprotinin (IE)	17	1,4	0,8	1,0	0,5	2,0	0,5	3,0
Kristalloide (ml)	99	1.248	601	1.130	750	1.864	250	3.650
Kolloide (ml)	96	1.138	601	1.000	500	1.750	100	2.750
EK (Stck.)	32	1,9	1,4	2,0	1,0	2,0	1,0	7,0
TK (Stck.)	18	1,3	0,6	1,0	1,0	2,0	1,0	3,0
FFP (Stck.)	24	4,5	1,7	4,0	3,6	6,0	3,0	10,0
Fibrinogen (g)	1	4,0	—	4,0	—	—	4,0	4,0

5.3 Hämodilution

Im Folgenden werden die zeitlichen Verläufe von Hämatokrit, Erythrozytenzahl, Hämoglobin, sowie der Gerinnungsparameter Faktor XIII-Aktivität, Quick-Wert, aPTT, Thrombozytenzahl und Fibrinogenkonzentration beschrieben. Um den Einfluss einer intra- und postoperativen Hämodilution abzubilden, werden zusätzlich die auf den Hämatokrit normierten Werte dargestellt.

Abb. 8 bis 10 zeigen, dass Hämatokrit, Erythrozytenzahl und Hämoglobinkonzentration während des perioperativen Zeitraumes um etwa ein Drittel abnehmen und damit deutlich unterhalb des Normbereiches liegen. Werden Erythrozytenzahl und Hämoglobinkonzentration auf den postoperativen Hämatokrit normiert, finden sich keine signifikanten zeitlichen Veränderungen mehr (Abb. 9 bis 11).

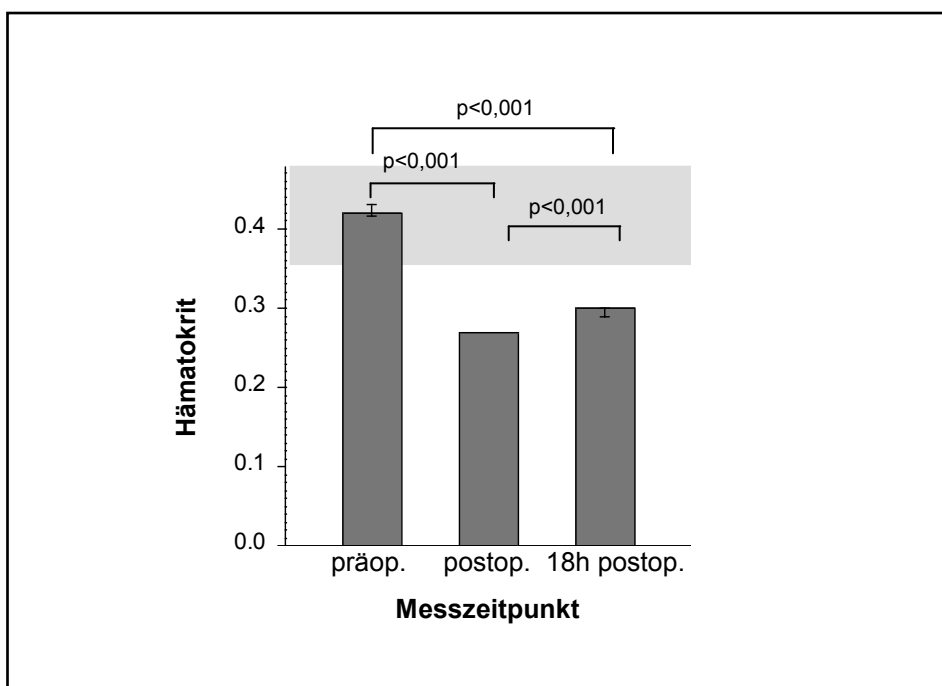


Abb. 9 Verlauf des Hämatokrit. Median mit dem 68%-CI des Medians. Der schattierte Bereich stellt den Normbereich dar.

Die präoperative Erythrozytenkonzentration liegt im Median mit 4,6 g/l [4,5; 4,7] im Normbereich. Zum direkt postoperativen Messzeitpunkt zeigt sich ein signifikanter Abfall der Erythrozytenkonzentration. Zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt steigt die Erythrozytenkonzentration signifikant an, liegt jedoch mit 3,2 g/l [3,2; 3,3] nicht im Normbereich. Nach Normierung der Erythrozytenkonzentration auf den Hämatokrit stellen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen direkt postoperativem und 18 Stunden postoperativem Messzeitpunkt dar. Beide auf den Hämatokrit normierten postoperativen Messzeitpunkte liegen im Normbereich.

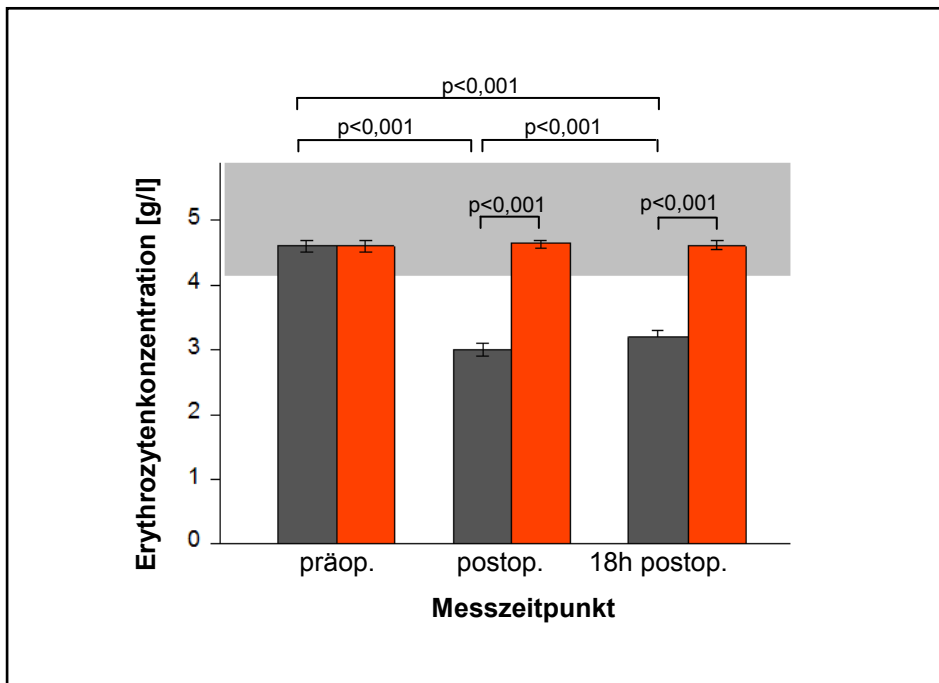
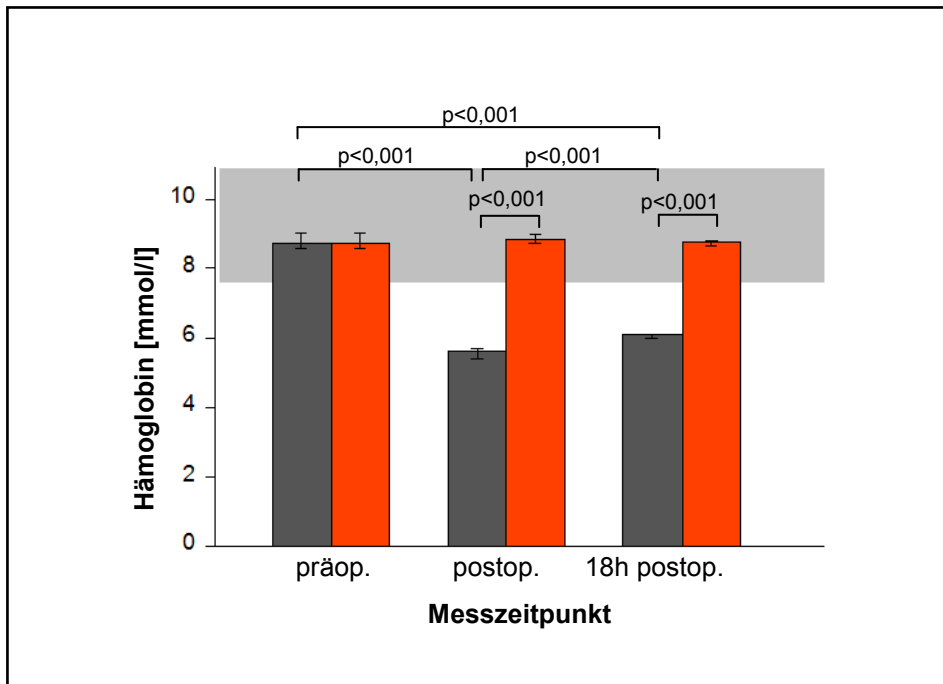


Abb. 10 Verlauf der Erythrozytenkonzentration. Median mit dem 68%-CI des Medians. Der schattierte Bereich stellt den Normbereich dar.

■ = Messwert, ■ = HK-normierter Wert.

In analoger Weise zur Erythrozytenkonzentration verändern sich auch die bestimmten Hämoglobinkonzentrationen. Die postoperativen Werte sind hoch signifikant erniedrigt und liegen im pathologischen Bereich. Bei Normierung auf den Hämatokrit sind jedoch keine signifikanten Veränderungen im zeitlichen Verlauf nachweisbar (Abb. 11).



**Abb. 11 Verlauf des Hämoglobin-Wertes. Median mit dem 68%-CI des Medians. Der schattierte Bereich stellt den Normbereich dar.
■ = Messwert, ■ = HK-normierter Wert.**

5.3.1 Faktor XIII-Aktivität

Die präoperativen Werte der Faktor XIII-Aktivität liegen im Median mit 95 % [89,8; 99,4] im Normbereich von 70-140 %. Bei 18 % der Patienten liegt präoperativ eine erhöhte Faktor XIII-Aktivität vor, bei 28 % der Patienten ein erniedrigter Wert. Im Verlauf zum direkt postoperativen Messzeitpunkt nimmt die Faktor XIII-Aktivität hoch signifikant auf im Median 65 % [62,6; 83,0] ab. Zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt steigt die Faktor XIII-Aktivität hoch signifikant an, erreicht jedoch nicht die Ausgangswerte (Abb. 12).

Nach Normierung auf den Hämatokrit sind zum direkt postoperativen und 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt keine signifikanten Änderungen der Faktor XIII-Aktivität nachweisbar. Alle normierten Werte befinden sich im Normbereich.

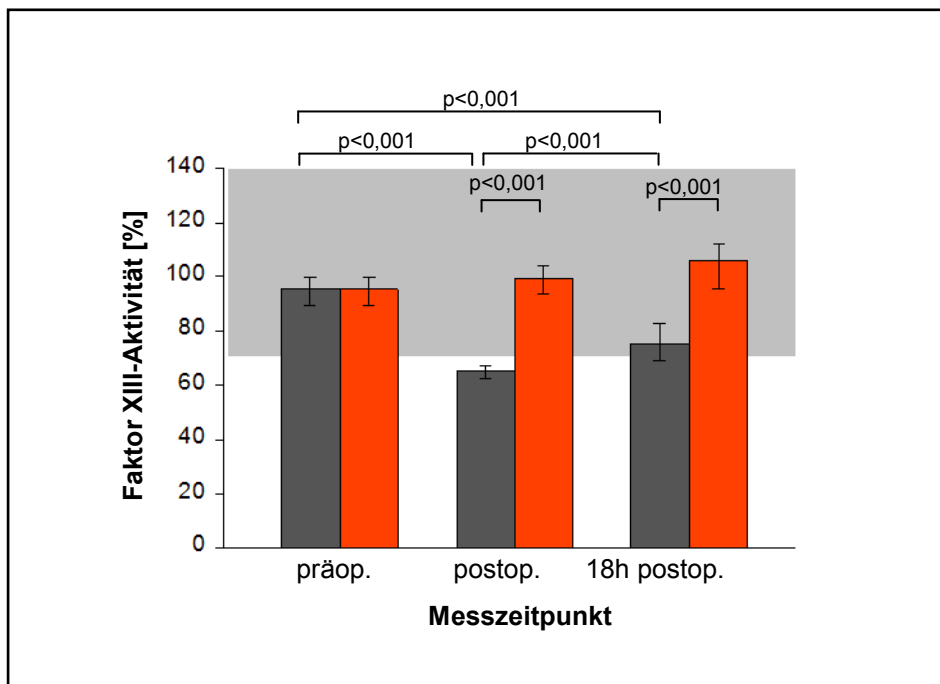


Abb. 12 Verlauf der Faktor XIII-Aktivität. Median mit dem 68%-CI des Medians.

Der schattierte Bereich stellt den Normbereich dar.

■ = Messwert, ■ = HK-normierter Wert.

5.3.2 Quick-Wert

Der Quick-Wert nimmt zum direkt postoperativen Messzeitpunkt hoch signifikant ab. Im Median bleibt der Quick-Wert mit einem Messwert von 75 % [74,0; 76,0] im Normbereich. Im weiteren postoperativen Verlauf steigt der Quick-Wert hoch signifikant an. Zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt liegen 93 % der Werte mit 93 % [91,0; 94,0] im Normbereich (Abb. 13).

Nach Normierung auf den Hämatokrit ist ein hoch signifikanter Anstieg des Quick-Wertes zum direkt postoperativen Messzeitpunkt sowie zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt zu registrieren.

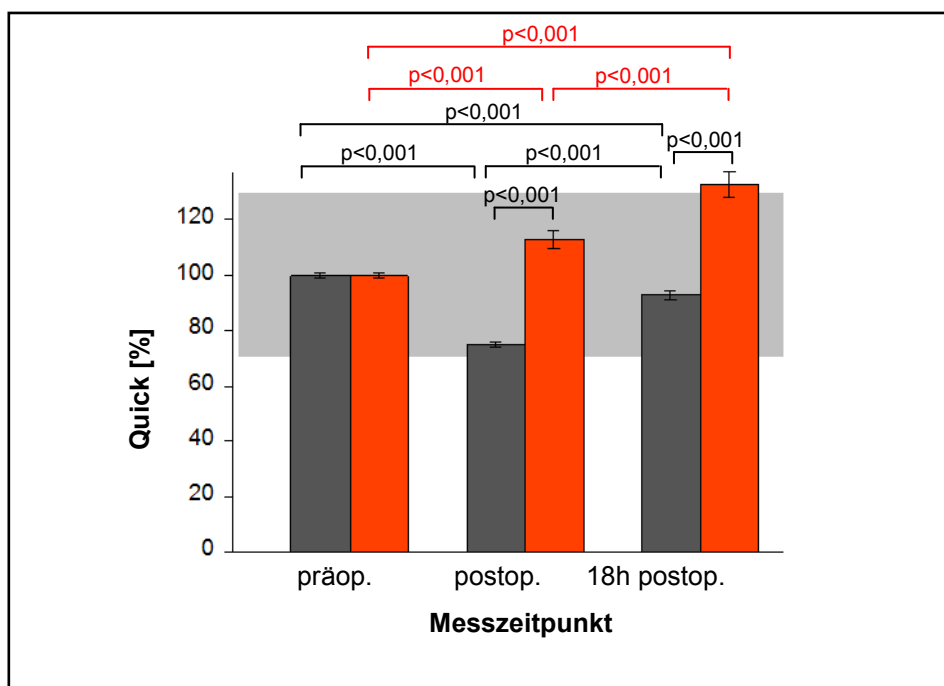


Abb. 13 Verlauf des Quick-Wertes. Median mit dem 68%-CI des Medians.

Der schattierte Bereich stellt den Normbereich dar.

■ = Messwert, ■ = HK-normierter Wert.

5.3.3 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)

Die aPTT nimmt zum direkt postoperativen Messzeitpunkt hoch signifikant zu und liegt im Median oberhalb des Normbereiches. Im Verlauf zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt nimmt die aPTT ab, 83 % der Werte sind über die Norm verlängert. Der Median der aPTT liegt zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt mit 37 Sekunden [36,0; 37,0] oberhalb des Normbereiches.

Wie in Abb. 14 dargestellt, liegt die normierte aPTT zum direkt postoperativen Messzeitpunkt ca. ein Drittel unterhalb des absoluten Wertes bei 31,0 Sekunden [31,4; 32,6]. Ein weiterer signifikanter Abfall der normierten aPTT Werte findet sich im weiteren Verlauf zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt. Die normierten aPTT-Werte befinden sich zu allen Messzeitpunkten im Normbereich.

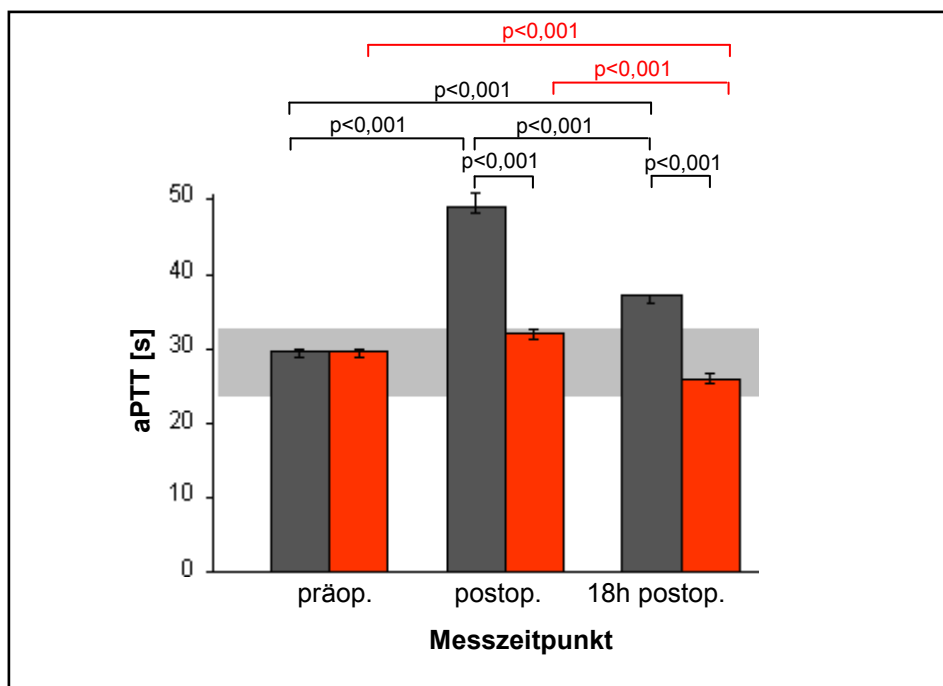


Abb. 14 Verlauf der aPTT. Median mit dem 68%-CI des Medians.

Der schattierte Bereich stellt den Normbereich dar.

■ = Messwert, ■ = HK-normierter Wert.

5.3.4 Thrombozyten

Die Thrombozytenzahl liegt zum präoperativen Messzeitpunkt im Normbereich. Intraoperativ sinkt die Thrombozytenzahl hoch signifikant um ca. ein Drittel und liegt zum direkt postoperativen Messzeitpunkt unterhalb der Normgrenze. 18 Stunden postoperativ ist ein hoch signifikanter Anstieg der Thrombozytenzahl zu registrieren, wobei die Thrombozytenzahl um etwa 25 % gegenüber dem Ausgangswert reduziert bleibt.

Nach der Normierung auf den Hämatokrit ist ebenfalls ein signifikanter Abfall der Thrombozytenzahl zum direkt postoperativen Messzeitpunkt zu registrieren, jedoch liegt die Thrombozytenzahl im Gegensatz zu den absoluten Werten im Normbereich. Zwischen direkt postoperativem Messzeitpunkt und 18 Stunden postoperativem Messzeitpunkt ist ein niedrig signifikanter Anstieg zu registrieren (Abb. 15).

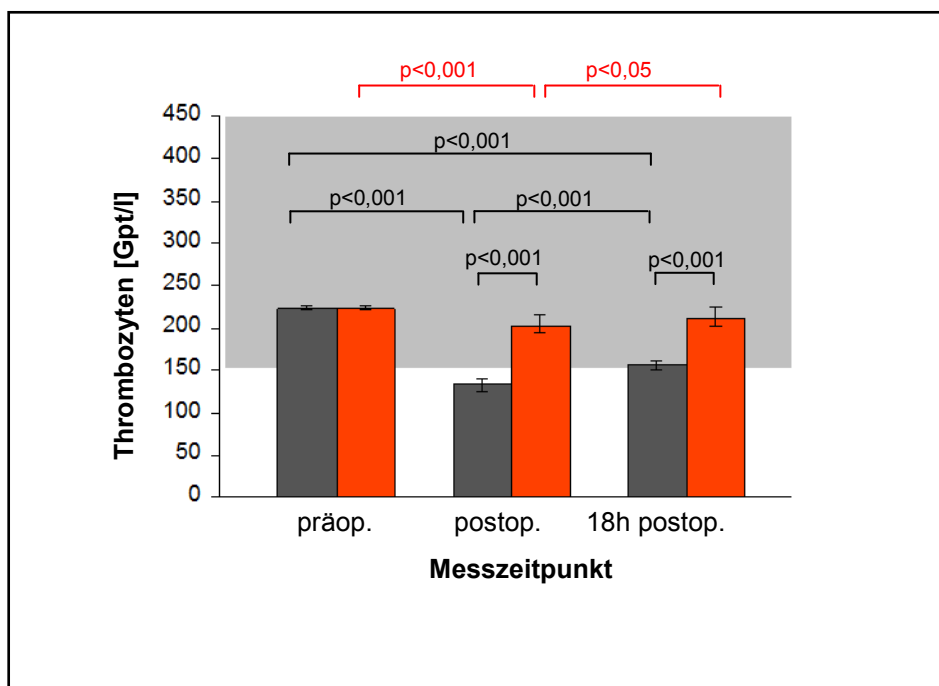


Abb. 15 Verlauf der Thrombozytenzahl. Median mit dem 68%-CI des Medians.

Der schattierte Bereich stellt den Normbereich dar.

■ = Messwert, ■ = HK-normierter Wert.

5.3.5 Fibrinogen

Präoperativ liegt die Fibrinogenkonzentration im Median mit 3,3 g/l [3,2; 3,4] innerhalb des Normbereiches. Zum direkt postoperativen Messzeitpunkt fällt die Fibrinogenkonzentration hoch signifikant ab und steigt zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt im Median wieder leicht über die obere Normgrenze an.

Die auf den Hämatokrit normierten Werte zeigen zum direkt postoperativen Messzeitpunkt zunächst einen nicht signifikanten Anstieg der Fibrinogenkonzentration.

Am 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt ist ein hoch signifikanter Anstieg der Fibrinogenkonzentration auf im Median 5,1 g/l [5,4; 5,7] zu registrieren (Abb.16). Circa ein Drittel der normierten Werte liegen oberhalb des Normbereiches.

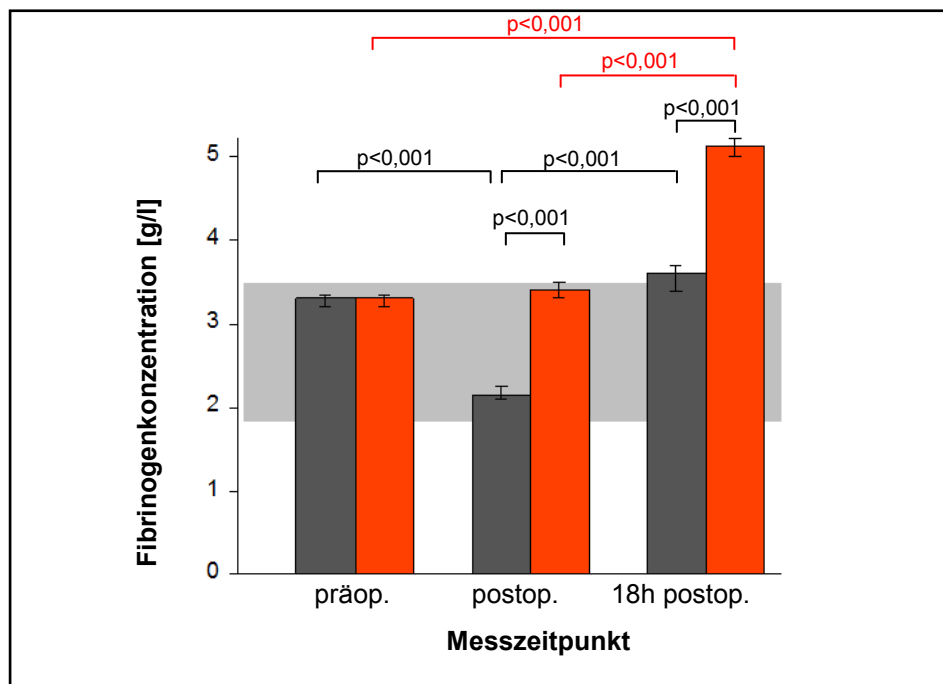


Abb. 16 Verlauf der Fibrinogenkonzentration. Median mit dem 68%-CI des Medians. Der schattierte Bereich stellt den Normbereich dar.

■ = Messwert, ■ = HK-normierter Wert.

5.4 Zeitlicher Verlauf der ROTEM®-Parameter

Bestimmt wurden die zeitlichen Verläufe von Clotting Time (CT), Clot Formation Time (CFT) im EXTEM sowie der Maximum Clot Firmness (MCF) im EXTEM und im FIBTEM.

5.4.1 EXTEM

Zum präoperativen Messzeitpunkt liegen die Mediane der CT und CFT im Normbereich. Im weiteren Verlauf zum direkt postoperativen Messzeitpunkt steigen CT und CFT hoch signifikant an. Die Mediane der CT und CFT liegen zum direkt postoperativen Messzeitpunkt innerhalb der Normbereiche.

Zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt sinken CT und CFT Werte signifikant ab, liegen aber im Median signifikant über den präoperativen Ausgangswerten.

Der Median der Maximum Clot Firmness liegt zum präoperativen Zeitpunkt innerhalb der spezifischen Normwerte 65,0 mm [65,0; 66,0]. Zum direkt postoperativen Messzeitpunkt nimmt die MCF im Median innerhalb des Normbereiches signifikant ab. Im Verlauf zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt steigen die MCF Werte im Median auf 63,0 mm [63,0; 64,0] an.

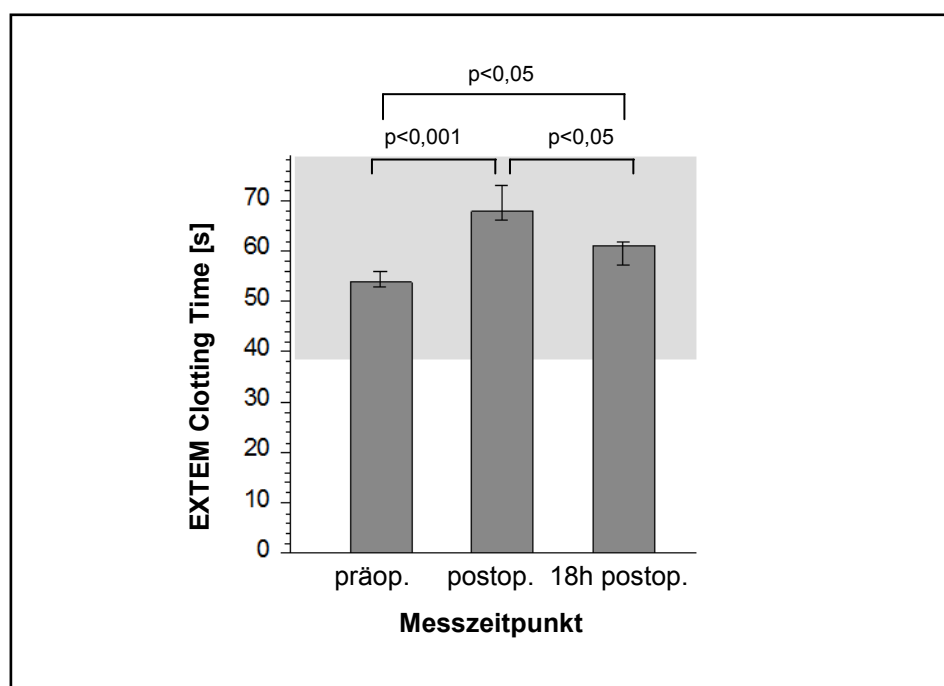


Abb. 17 Verlauf der Clotting Time im EXTEM. Median mit dem 68%-CI des Medians. Der schattierte Bereich stellt den Normbereich dar.

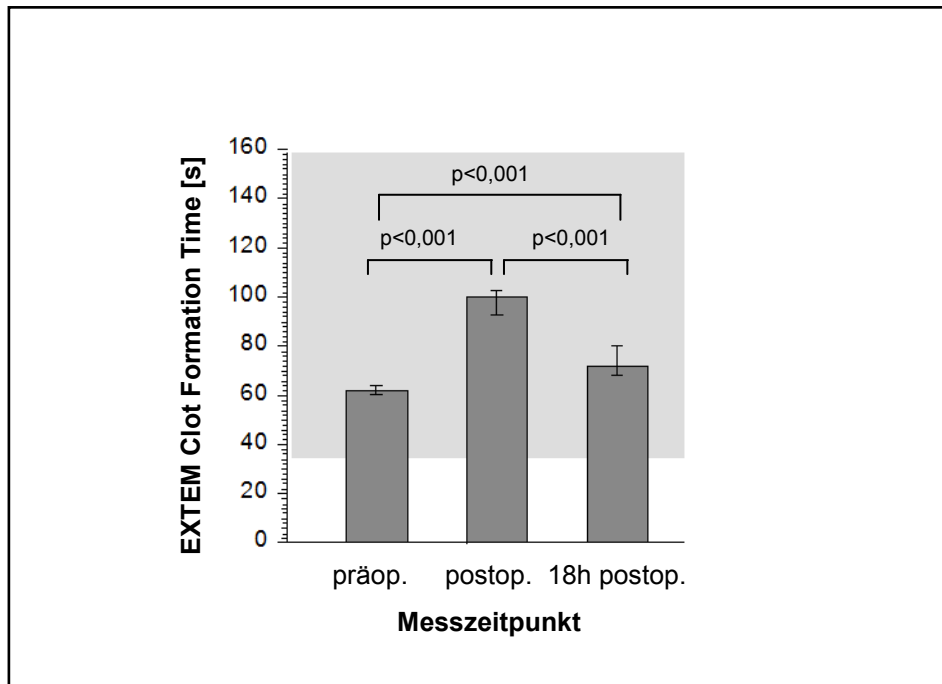


Abb. 18 Verlauf der Clot Formation Time im EXTEM. Median mit dem 68%-CI des Medians. Der schattierte Bereich stellt den Normbereich dar.

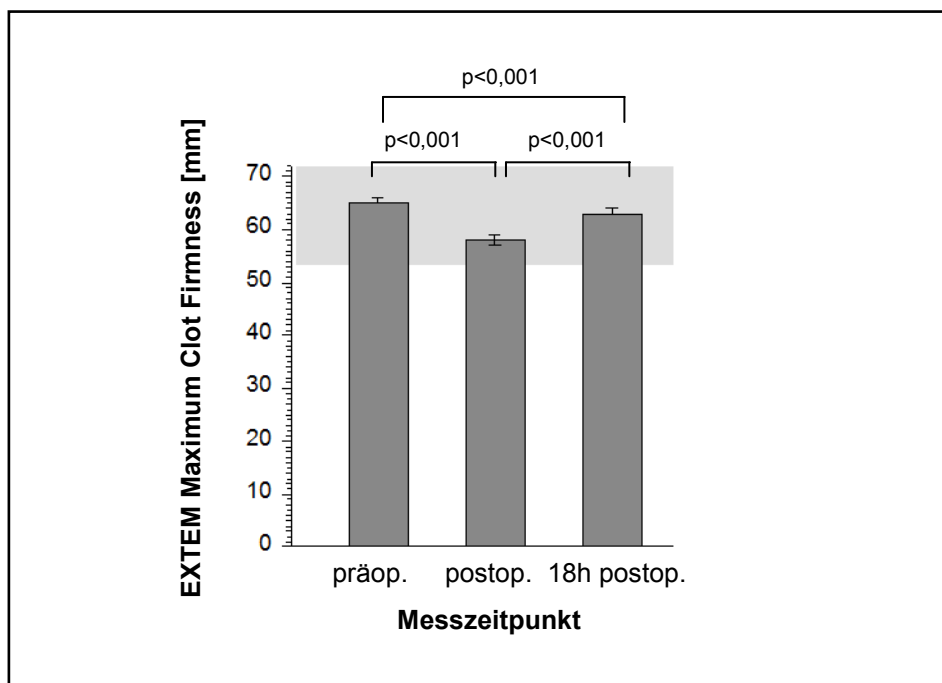


Abb. 19 Verlauf der Maximum Clot Firmness im EXTEM. Median mit dem 68%-CI des Medians. Der schattierte Bereich stellt den Normbereich dar.

5.4.2 FIBTEM

Zum präoperativen Messzeitpunkt liegt der Median der Maximum Clot Firmness (MCF) innerhalb des Normbereiches. Zum direkt postoperativen Messzeitpunkt fallen die Messwerte signifikant um ca. ein Drittel ab, liegen aber weiterhin innerhalb des Normbereiches.

Im postoperativen Verlauf steigt die MCF signifikant an, erreicht aber zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt nicht die präoperativen Ausgangswerte.

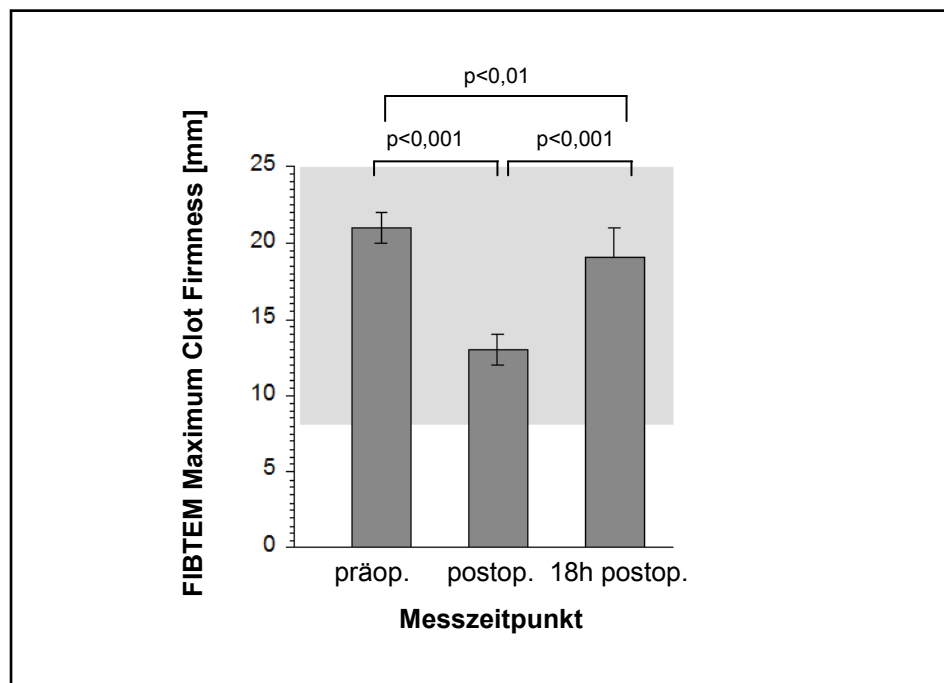


Abb. 20 Verlauf der Maximum Clot Firmness im FIBTEM. Median mit dem 68%-CI des Medians. Der schattierte Bereich stellt den Normbereich dar.

5.5 Korrelationen zwischen Faktor XIII-Aktivität und Hämotherapie

Zwischen der Faktor XIII-Aktivität zu den bekannten Messzeitpunkten und der intraoperativen, sowie postoperativen Hämotherapie, bestehen signifikante Korrelationen. Patienten die intraoperativ mehr kolloidale Lösung verabreicht bekamen, weisen zum direkt postoperativen Messzeitpunkt eine signifikant niedrigere Faktor XIII-Aktivität auf. Weiterhin bestehen zum direkt postoperativen Messzeitpunkt signifikante Korrelationen zwischen Faktor XIII-Aktivität und der Gabe von Heparin und Protamin. Zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt korreliert die Faktor XIII-Aktivität hoch signifikant invers mit der Erythrozytenkonzentratgabe. Eine Korrelation zwischen der Faktor XIII-Aktivität und der Substitution mit Thrombozytenkonzentraten oder Fresh Frozen Plasma (FFP) findet sich zu keinem postoperativen Messzeitpunkt. Weitere Details zur Korrelation zwischen der Faktor XIII-Aktivität und der vorgenommenen Hämotherapie finden sich in Tab. 6.

Tab. 6 Korrelation zwischen der Faktor XIII-Aktivität und den Parametern der intraoperativen Hämotherapie.

tau und p der Kendallschen Rangkorrelation. *p <0,05, **p <0,01, *p <0,001.**

Faktor XIII direkt postop.		Faktor XIII 18h postop.	
Variable	tau und p	Variable	tau und p
<i>Heparin</i>	0,192 **	<i>Heparin</i>	-0,153
<i>Protamin</i>	0,142 *	<i>Protamin</i>	-0,188 *
<i>Erythrozytenkonzentrate</i>	-0,086	<i>Erythrozytenkonzentrate</i>	-0,290 ***
<i>Thrombozytenkonzentrate</i>	-0,028	<i>Thrombozytenkonzentrate</i>	-0,064
<i>Fresh Frozen Plasma</i>	0,006	<i>Fresh Frozen Plasma</i>	-0,103
<i>Kolloide</i>	-0,157 *	<i>Kolloide</i>	-0,045

5.6 Korrelation zwischen der Faktor XIII-Aktivität und ausgewählten Hämostaseparametern

Es ist weiterhin von Interesse, inwiefern die hier zu den drei definierten Messzeitpunkten bestimmten Parameter der Hämostase mit der Faktor XIII-Aktivität zum präoperativen, direkt postoperativen und 18 Stunden postoperativen Zeitpunkt korrelieren.

Hierbei ist ein hoch signifikanter Zusammenhang zwischen der direkt postoperativen Fibrinogenkonzentration im Plasma und der Faktor XIII-Aktivität zu diesem Messzeitpunkt festzustellen ($p < 0,001$). Ebenfalls korreliert die Thrombozytenzahl zum zweiten Messzeitpunkt schwach positiv mit der Faktor XIII-Aktivität zu diesem Zeitpunkt ($p < 0,05$).

Der Quick-Wert, die aPTT, sowie Hämoglobin und Hämatokrit korrelieren dagegen zu keinem Messzeitpunkt mit der Faktor XIII-Aktivität.

5.7 Postoperativer Blutverlust

5.7.1 Korrelation zwischen der Faktor XIII-Aktivität und dem postoperativen Blutverlust

Bei der Betrachtung der Korrelationen zwischen postoperativem Blutverlust (in ml) und der postoperativen Faktor XIII-Aktivität konnten signifikante Veränderungen festgestellt werden (Tab. 7).

Hierbei korrelieren niedrige Werte der Faktor XIII-Aktivität zum direkt postoperativen Messzeitpunkt hoch signifikant mit einem erhöhten postoperativen Blutverlust. 18 Stunden postoperativ lässt sich ebenfalls eine schwache gegensinnige Korrelation zwischen der Faktor XIII-Aktivität und dem postoperativen Blutverlust feststellen. Zusammenhänge zwischen dem postoperativen Blutverlust und den präoperativen Messwerten der Faktor XIII-Aktivität lassen sich nicht nachweisen.

Tab. 7 Korrelation zwischen Faktor XIII-Aktivität und dem postoperativen Blutverlust
tau und p der Kendallschen Rangkorrelation. *p <0,05, **p <0,01, *** p <0,001.

Postoperativer Blutverlust	
Faktor XIII Messzeitpunkt	tau und p
Faktor XIII präop.	-0,044
Faktor XIII direkt postop.	-0,239 ***
Faktor XIII 18h postop.	-0,192 *

Nachdem signifikante Korrelationen zwischen postoperativem Blutverlust und der Faktor XIII-Aktivität festgestellt werden konnten, wurden die Patienten nach ihrem postoperativen Blutverlust in zwei Gruppen kategorisiert. Der Cut-off-Punkt wurde dabei beim Median des Blutverlustes (525 ml) gesetzt. Die Gruppe mit niedrigerem Blutverlust bis 525 ml wies eine signifikant höhere Aktivität des Faktor XIII von 75 % auf. In der Gruppe mit einem postoperativen Blutverlust über 525 ml lag die Faktor XIII-Aktivität durchschnittlich bei 60 % (p <0,05 im U-Test).

5.7.2 Korrelation weiterer Hämostaseparameter und ROTEM®-Parametern mit dem postoperativen Blutverlust

Tab. 8 zeigt, dass der postoperative Blutverlust hoch signifikant invers mit der direkt postoperativen Fibrinogenkonzentration korreliert. Ebenfalls korrelieren zu diesem Zeitpunkt die Thrombozytenzahl und der Quick-Wert signifikant mit dem postoperativen Blutverlust. Der hoch signifikante Zusammenhang mit der Fibrinogenkonzentration bleibt auch zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt bestehen. Die aPTT korreliert 18 Stunden postoperativ niedrig signifikant direkt mit dem Blutverlust.

Tab. 8 Korrelation zwischen weiteren Hämostaseparametern und dem postoperativen Blutverlust.

tau und p der Kendallschen Rangkorrelation. *p <0,05, **p <0,01, ***p <0,001.

		Postoperativer Blutverlust
	Variable	tau und p
direkt postop.	<i>Fibrinogen</i>	-0,264 ***
	<i>Thrombozyten</i>	-0,137*
	<i>Quick</i>	-0,139*
18h postop.	<i>Fibrinogen</i>	-0,240***
	<i>aPTT</i>	0,144*

Weiterhin konnten signifikante Zusammenhänge zwischen den ermittelten ROTEM®-Parametern und dem postoperativen Blutverlust gefunden werden (Tab. 9). Hierbei werden signifikant positive Korrelationen zwischen der Clot Formation Time (CFT) besonders zum direkt postoperativen und 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt gefunden. Hoch signifikant korrelieren die Werte der Maximum Clot Firmness (MCF) im EXTEM zum direkt postoperativen und 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt mit dem postoperativen Blutverlust. Ebenfalls korreliert die MCF im FIBTEM hoch signifikant mit dem postoperativen Blutverlust zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt.

Tab. 9 Korrelation ausgewählter ROTEM®-Parameter (*CFT* = *Clot Formation Time*, *MCF* = *Maximum Clot Firmness*) mit dem postoperativen Blutverlust.
 tau und p der Kendallschen Rangkorrelation. *p <0,05, **p <0,01, ***p <0,001.

		Postoperativer Blutverlust
Variable		tau und p
direkt postop.	EXTEM CFT	0,215**
	EXTEM MCF	-0,235 ***
18h postop.	EXTEM CFT	0,154 *
	EXTEM MCF	-0,211**
	FIBTEM MCF	-0,250 ***

5.7.3. Lineares Regressionsmodell

Mittels linearer Regressionsanalyse wurde der Zusammenhang zwischen prä- und direkt postoperativen Hämostaseparametern und dem postoperativen Blutverlust untersucht. Dabei korrelieren prä- und direkt postoperativer Quick-Wert, sowie die direkt postoperative Faktor XIII-Aktivität positiv mit dem postoperativen Blutverlust. In einem zweiten Regressionsmodell wurden zusätzlich die ROTEM®-Parameter CT, CFT im EXTEM sowie MCF im EXTEM und FIBTEM mit einbezogen. Prä- und direkt postoperativer Quick-Wert, sowie die direkt postoperative Faktor XIII-Aktivität korrelieren dabei weiterhin positiv mit dem postoperativen Blutverlust (Tab. 10).

Tab. 10 Zusammenhang zwischen prä- und postoperativen Hämostaseparametern und dem postoperativen Blutverlust. Es wurde ein lineares Regressionsmodell mit schrittweisem Variablenausschluss mit postop. Blutverlust (in ml) als abhängige Variable und der Faktor XIII-Aktivität, Quick-Wert, aPTT, Fibrinogenkonzentration und Thrombozytenzahl als unabhängige Variable verwendet. Zusätzlich wurden in einem zweiten Modell die ROTEM®-Parameter (CT, CFT und MCF aus EXTEM sowie MCF aus FIBTEM) als unabhängige Variablen eingeschlossen. Dargestellt sind die Variablen mit signifikantem Einfluss auf den postop. Blutverlust.

		ROTEM®-Parameter	Variable	beta	p
präop.	nein		<i>Quick</i>	-0,244	0,017
	Ja		<i>Quick</i>	0,223	0,029
direkt postop.	nein		<i>Faktor XIII</i>	-0,260	0,007
			<i>Quick</i>	-0,306	0,002
	Ja		<i>Faktor XIII</i>	-0,260	0,007
			<i>Quick</i>	-0,306	0,002

5.8 Zusammenhang der Faktor XIII-Aktivität und weiteren Hämostaseparametern mit ROTEM®-Parametern

Bei der Untersuchung der Korrelation zwischen der Faktor XIII-Aktivität und den bestimmten ROTEM®-Parametern konnten Zusammenhänge festgestellt werden (Tab. 11). Signifikante Zusammenhänge ergeben sich zum direkt postoperativen Messzeitpunkt. Zu diesem Zeitpunkt korrelieren alle untersuchten ROTEM®-Parameter mit der Faktor XIII-Aktivität. Besonders hoch korrelieren die Maximum Clot Firmness (MCF) im EXTEM sowie im FIBTEM positiv mit der Faktor XIII-Aktivität direkt postoperativ. Ein hoch signifikanter inverser Zusammenhang ergibt sich auch zwischen der Clot Formation Time (CFT) in EXTEM und der Faktor XIII-Aktivität zum direkt postoperativen Messzeitpunkt. Präoperativ lassen sich keine Korrelationen zwischen den ROTEM®-Parametern und der Faktor XIII-Aktivität feststellen.

Zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt verstärkt sich die negative Korrelation zwischen der Clotting Time (CT) im EXTEM und der Faktor XIII-Aktivität. Alle weiteren vermessenen ROTEM®-Parameter weisen zu diesem Zeitpunkt keine signifikante Beziehung zur Faktor XIII-Aktivität auf.

Tab. 11 Korrelation zwischen der Faktor XIII-Aktivität und den ROTEM®-Parametern CT, CFT und MCF im EXTEM, sowie MCF im FIBTEM (*CT=Clotting Time, CFT=Clot Formation Time, MCF=Maximum Clot Firmness*).
tau und p der Kendallschen Rangkorrelation. *p <0,05, **p <0,01, ***p <0,001.

	Faktor XIII präop.	Faktor XIII direkt postop.	Faktor XIII 18h postop.
ROTEM	<i>tau und p</i>	<i>tau und p</i>	<i>tau und p</i>
EXTEM			
CT	0,072	-0.148 *	-0,239 **
CFT	-0,129	-0,252 ***	-0,067
MCF	0,110	0,265 ***	-0,004
FIBTEM			
MCF	0.134	0,264 ***	0,074

Nachdem signifikante Korrelationen zwischen der Faktor XIII-Aktivität und der direkt postoperativen MCF im EXTEM als auch im FIBTEM festgestellt werden konnten, galt die Aufmerksamkeit weiteren Gerinnungsparametern, welche Einfluss auf die MCF haben könnten.

Wie in Tab. 12 dargestellt korrelieren zum direkt postoperativen Messzeitpunkt die Fibrinogenkonzentration, die Thrombozytenzahl und der Quick-Wert hoch signifikant mit der MCF im EXTEM und FIBTEM. Weiterhin bestehen signifikante Zusammenhänge zwischen der aPTT und der MCF im EXTEM und FIBTEM zu diesem Zeitpunkt. Zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt bleiben diese Signifikanzen bei der Fibrinogenkonzentration, der Thrombozytenzahl und der aPTT bestehen.

Tab. 12 Korrelation zwischen ausgewählten Gerinnungsparametern und den ROTEM®-Parametern MCF im EXTEM und im FIBTEM (*MCF=Maximum Clot Firmness*).
tau und p der Kendallschen Rangkorrelation. *p <0,05, **p <0,01, ***p <0,001

Variable		EXTEM MCF	FIBTEM MCF
		tau und p	tau und p
direkt postop.	<i>Fibrinogen</i>	0,682***	0,631***
	<i>Thrombozyten</i>	0,649***	0,532***
	<i>Quick</i>	0,384***	0,328***
	<i>aPTT</i>	-0,170*	-0,161*
18 h postop.	<i>Fibrinogen</i>	0,497***	0,503***
	<i>Thrombozyten</i>	0,506***	0,395***
	<i>aPTT</i>	-0,184**	-0,158*

Um den Einfluss der Faktor XIII-Aktivität auf die MCF im EXTEM und FIBTEM im Vergleich zu den anderen Hämostaseparametern einzuschätzen, wurde eine lineare Regressionsanalyse mit MCF als abhängige und Faktor XIII-Aktivität, Fibrinogenspiegel, Thrombozytenzahl, aPTT und Quick-Wert als unabhängige Variablen durchgeführt. Die Faktor XIII-Aktivität korreliert signifikant mit der MCF im EXTEM und FIBTEM sowohl zum präoperativen Messzeitpunkt als auch zum direkt postoperativen Messzeitpunkt. Diese Korrelation ist jedoch deutlich schwächer als die Korrelation mit der Fibrinogenkonzentration oder der Thrombozytenzahl. Eine schwache, aber signifikante Korrelation wurde direkt postoperativ auch zwischen Quick-Wert und MCF im EXTEM, aber nicht im FIBTEM beobachtet. 18 Stunden postoperativ korreliert die MCF weiterhin hoch signifikant mit der Thrombozytenzahl und der Fibrinogenkonzentration (Tab. 13).

Tab. 13 Zusammenhang zwischen den ROTEM®-Parametern EXTEM- und FIBTEM-MCF (*MCF=Maximum Clot Firmness*) und Hämostaseparametern. Es wurde ein lineares Regressionsmodell mit schrittweisem Variablenauschluss mit MCF als abhängige Variable und Faktor XIII-Aktivität, Quick-Wert, aPTT, Fibrinogenkonzentration und Thrombozytenzahl als unabhängige Variablen verwendet. Dargestellt sind die Variablen mit signifikantem Einfluss auf die MCF. *keine Signifikanz

Variable		EXTEM MCF		FIBTEM MCF	
		<i>Beta</i>	<i>p</i>	<i>Beta</i>	<i>p</i>
präop.	<i>Faktor XIII</i>	0,174	0,012	0,227	0,002
	<i>Fibrinogen</i>	0,466	< 0,001	0,572	< 0,001
	<i>Thrombozyten</i>	0,466	< 0,001	0,262	0,001
direkt postop.	<i>Faktor XIII</i>	0,126	0,011	0,113	0,034
	<i>Fibrinogen</i>	0,401	< 0,001	0,627	< 0,001
	<i>Thrombozyten</i>	0,492	< 0,001	0,302	< 0,001
	<i>Quick</i>	0,112	0,037		*
18h postop.	<i>Thrombozyten</i>	0,489	< 0,001		*
	<i>Fibrinogen</i>	0,477	< 0,001	0,346	0,004

5.9 Zusammenhang zwischen ROTEM[®]-Parametern und Volumenersatz sowie Blut- und Plasmaprodukten

Die intra- und postoperative Volumenersatztherapie, sowie die Gabe von Blut- und Plasmaprodukten könnten die Hämostase im Sinne einer Dilutionskoagulopathie oder eines Faktorenersatzes negativ bzw. positiv verändern. Um zu prüfen, inwieweit solche Einflüsse bei den in dieser Studie untersuchten Patienten nachweisbar sind, wurde eine lineare Regressionsanalyse mit MCF im EXTEM und FIBTEM als abhängige Variablen durchgeführt. Die intraoperative und postoperative Gabe von Kristalloiden und Kolloiden, Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten, Fresh Frozen Plasma (FFP) sowie Aprotinin und Heparin wurden als unabhängige Variable in das Modell aufgenommen. Von diesen Variablen haben nur Kolloide, FFP und Erythrozytenkonzentrate einen signifikanten Einfluss auf die Hämostase, gemessen als MCF im ROTEM[®]. Wie Tab. 14 zeigt, korrelieren intra- und postoperative Kolloide negativ mit der postoperativen und 18 Stunden postoperativen MCF sowohl im EXTEM als auch im FIBTEM. Eine intraoperative FFP-Gabe erhöhte die postoperative gemessene MCF im EXTEM und FIBTEM. Kein signifikanter Zusammenhang wurde zwischen postoperativer FFP-Gabe und den 18 Stunden postoperativen ROTEM[®]-Parametern beobachtet. Eine negative Auswirkung auf die MCF im FIBTEM hatte überraschenderweise die postoperative Gabe von Erythrozytenkonzentraten. Um die daraus abgeleitete Hypothese, dass die Gabe von Erythrozyten, also eine Erhöhung des Hämatokrits, die Gerinnselfestigkeit erniedrigt, zu prüfen, wurden Korrelationen zwischen präoperativen Werten des MCF und des Hämatokrit berechnet. Hierbei konnten hoch signifikant inverse Korrelationen zwischen Hämatokrit und der MCF im EXTEM sowie FIBTEM festgestellt werden ($p < 0,001$).

Tab. 14 Zusammenhang zwischen den ROTEM®-Parametern EXTEM und FIBTEM MCF (MCF=Maximum Clot Firmness) und Volumenersatz sowie Blut- und Plasmaprodukten. Es wurde ein lineares Regressionsmodell mit schrittweisem Variablenausschluss mit MCF als abhängige Variable und Heparin, Aprotinin, Erythrozytenkonzentrate (EK), Thrombozytenkonzentrate (TK), Kristalloide, Kolloide und Fresh Frozen Plasma (FFP) als unabhängige Variablen verwendet. Dargestellt sind die Variablen mit signifikantem Einfluss auf MCF. *keine Signifikanz

Variable		EXTEM MCF		FIBTEM MCF	
		<i>Beta</i>	<i>p</i>	<i>Beta</i>	<i>p</i>
direkt postop.	<i>Kolloide</i>	-0,308	0,002	- 0,268	0,006
	<i>FFP</i>	0,204	0,034	0,250	0,034
18h postop.	<i>Kolloide</i>	- 0,281	0,004	-0,219	0,025
	<i>EK</i>		*	-0,262	0,007

6. Diskussion

Faktor XIII hat im Verlauf der sekundären Hämostase, in seiner Funktion als Transglutaminase, die essentielle Aufgabe die Quervernetzung der Fibrinmoleküle zu initiieren. Eine weitere zentrale Stellung nimmt Faktor XIII durch Einbau von Fibrinolyseinhibitoren, wie α_2 –Antiplasmin, ein. Hierdurch wird eine vorzeitige Lyse des Clots verhindert (Lorand 2005). Ziel dieser Studie war es zu analysieren, welchen Einfluss dem Gerinnungsfaktor XIII im Rahmen kardiochirurgischer Eingriffe am offenen Herzen unter Einsatz einer Herz-Lungen- Maschine zukommt.

Die primäre Fragestellung dieser Arbeit war es, den Verlauf der Faktor XIII-Aktivität vom präoperativen zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt zu evaluieren und die potentielle Korrelation mit dem postoperativen Blutverlust zu bestimmen. Durch die Einbeziehung der Rotationsthrombelastographie sollte ein möglicher Zusammenhang mit der maximalen Clotfestigkeit (MCF) eruiert werden.

6.1 Patientencharakteristik

Die 99 in diese Studie eingeschlossenen Patienten stehen exemplarisch für die routinemäßig durchgeführten Herzoperationen unter extrakorporaler Zirkulation am Universitätsklinikum Jena. Die teilnehmenden Patienten repräsentieren die klassische epidemiologische und demographische Verteilung in der Herzchirurgie. Zwei Drittel der Patienten waren männlich, ein Drittel der Patienten waren weiblich. Das durchschnittliche Alter der Patienten betrug 66 Jahre. Auch die beschriebenen Nebendiagnosen sind als konventionell zu werten (Friedrich et al. 2009). Der in der vorliegenden Arbeit erfasste durchschnittliche Blutverlust (525 ml), sowie die Anzahl und Menge der intra- und postoperativen durchgeführten Hämotherapie, sind mit Angaben der in der vorliegenden Studie zitierten Publikationen vergleichbar (Friedrich et al. 2009).

6.2 Verlauf der Faktor XIII-Aktivität

Eine Aufgabe der vorliegenden Studie bestand darin, den postoperativen Verlauf der Faktor XIII-Aktivität nach kardiochirurgischen Eingriffen unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine zu evaluieren. Dabei konnte direkt nach Eintreffen der Patienten auf der Intensivstation ein signifikanter Abfall der Faktor XIII-Aktivität im Vergleich zu den präoperativen Werten festgestellt werden. Dieser stieg 18 Stunden postoperativ zwar wieder leicht an, erreichte jedoch nicht die Ausgangswerte. Ein postoperativer Verlust der mittleren Faktor XIII-Aktivität wurde bereits in den 70er Jahren durch Gierharke et al. bei Abdominaloperationen und Belleville et al. unter kardiochirurgischen Operationen ohne extrakorporale Zirkulation beschrieben (Gierhake et al. 1974, Belleville et al. 1977).

In der vorliegenden Studie fiel die Faktor XIII-Aktivität direkt postoperativ um 31 % des mittleren Ausgangswertes auf im Median 65 % und stieg 18 Stunden postoperativ auf 77 % an. In einem vergleichbaren Studienaufbau von Ternström sind zwei Stunden postoperativ ähnliche Ergebnisse zu vermerken. Der absolute Faktor XIII-Wert fiel hier zwei Stunden postoperativ absolut um 28 ± 16 % (Ternstrom et al. 2010). Gødje et al. berichteten ebenfalls über einen unmittelbar postoperativen Abfall der Faktor XIII-Aktivität um mehr als 20 % (Godje et al. 1998).

Ein postoperativer Anstieg der Faktor XIII-Aktivität mehrere Stunden nach der Operation konnte durch Blome et al. bestätigt werden, während bei Ternström et al. die 24 Stunden postoperativen Werte mit den innerhalb der ersten zwei postoperativen Stunden bestimmten Ergebnissen vergleichbar blieben (-29 ± 16 %) (Blome et al. 2005, Ternstrom et al. 2010).

In einer 2011 publizierten Studie von Weber et al. wurde 24 Stunden postoperativ wieder ein leichter Abfall der Faktor XIII-Konzentration gemessen (Weber et al. 2011). Zu bemerken ist allerdings, dass Vergleiche der absoluten Aktivitätsraten des Faktor XIII aufgrund unterschiedlicher Patientenzahl und Bestimmungsmethoden sowie differierenden intraoperativen Managements und Messzeitpunkten, schwierig zu bewerten sind.

6.3 Korrelation zwischen der Faktor XIII-Aktivität und der Hämotherapie sowie ausgewählten Hämostaseparametern

Gründe für einen postoperativen Abfall der Plasmakonzentration eines Gerinnungsfaktors sind vielfältig und können u.a. bedingt sein durch die massive Dilution unter der intraoperativen Volumentherapie oder exzessiver Aktivierung der Gerinnungskaskade durch Kontakt mit unphysiologischen Oberflächen durch die extrakorporale Zirkulation (Despotis et al. 1994, Petroianu et al. 2003, Heimark et al. 1980). Um zu prüfen, ob der Abfall der Faktor XIII-Aktivität durch Verbrauch des Gerinnungsfaktors oder hauptsächlich über Dilution durch den Volumenersatz zu erklären ist, erfolgte eine Berücksichtigung der erfolgten Volumentherapie durch Normierung der Faktor XIII-Aktivität und weiterer Gerinnungsparameter auf den Hämatokrit. Nach Normierung auf den Hämatokrit waren die postoperativen Faktor XIII-Aktivitäten im Vergleich zu den präoperativen Werten etwas erhöht. Der direkt gemessene postoperative Abfall scheint demnach eher durch die Hämodilution als durch einen Verbrauch bedingt zu sein.

Intraoperativ wurden in der vorliegenden Studie zur Hämotherapie Erythrozytenkonzentrate, Fresh Frozen Plasma, Thrombozytenkonzentrate, Kolloidale Lösungen und Kristalloide verabreicht. Hierbei konnte ein signifikant inverser Zusammenhang zwischen dem infundierten Volumen des Kolloids und der Faktor XIII-Aktivität, jedoch nicht zwischen verabreichten Kristalloiden und der Faktor XIII-Aktivität festgestellt werden.

Ergebnisse zur Dilution mit 0.9 % Saline bzw. 130/0,4 Hydroxyethylstärke (HES) wurden 2010 in einer in vitro Studie von Weiss et al. veröffentlicht. Nach 60 %iger Dilution resultierte ein Abfall der Faktor XIII-Aktivität auf 50 %. Kritische Werte der ebenfalls bestimmten Gerinnungsfaktoren (II, V, VII, VIII, IX, X, XI und XII) von ca. 30 % ergaben sich nach Verdünnungen zwischen 60 % und 75 %. Die Art der verwendeten kolloidalen Lösung war dabei nicht beeinflussend. (Weiss et al. 2010). Die Unabhängigkeit vom Typ der verwendeten kolloidalen Lösung wurde ebenfalls von Sossdorf et al. 2009 berichtet. Nach einer 40%igen Verdünnung mit HES 130/0.4, HES 200/0.5 oder Saline konnten keine signifikanten Differenzen in der Faktor XIII-Aktivität festgestellt werden (Sossdorf et al. 2009).

Auch in der zuvor bereits zitierten Studie von Ternström et al. wurde eine Anpassung an den Hämatokrit vorgenommen. Hierbei ist im Gegensatz zur vorliegenden Studie weiterhin ein signifikanter Abfall der Faktor XIII-Aktivität und der Fibrinogenkonzentration zwei Stunden postoperativ ersichtlich. Dennoch liegen die normierten Werte von Faktor XIII-Aktivität und Fibrinogen-Konzentration deutlich über den absoluten Messwerten (Faktor XIII-Aktivität + 25 %; Fibrinogen + 0,6 g/l) zu diesem Zeitpunkt. 24 Stunden postoperativ lag die normierte Faktor XIII-Aktivität bei 31 % und die Fibrinogenkonzentration mit 1,3 g/l über dem absoluten Wert. Fibrinogen übersteigt somit in dieser Studie mit 5,2 g/l signifikant den Ausgangswert (Ternstrom et al. 2010).

Der signifikante postoperative Anstieg der Fibrinogen-Konzentration findet sich auch in Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. 18 Stunden postoperativ ist in unserer Arbeit ein hoch signifikanter Anstieg der normierten Fibrinogen-Konzentration auf im Median 5,1 g/l zu registrieren. Dies kann als Folge einer Akute-Phase-Reaktion nach der Operation gewertet werden.

2011 veröffentlichten Haas et al. eine Studie zum perioperativen Verlauf der Faktor XIII-Aktivität bei Kindern, die sich einer Operation mit voraussichtlich größerem Blutverlust unterziehen mussten. Trotz Applikation von Fresh Frozen Plasma (FFP) war ein deutlicher Abfall der Faktor XIII-Aktivität bei Kindern zu vermerken, die vor Beginn der Operation kolloidale Lösung infundiert bekamen, als im Vergleich zu Kindern ohne Volumenersatztherapie (Haas et al. 2011).

Ein möglicher intraoperativer Verbrauch von Faktor XIII könnte durch eine Freisetzung aus Thrombozyten kompensiert werden. In Thrombozyten liegt Faktor XIII als A₂-Homodimer in etwa 100-fach höherer Konzentration als im Plasma vor und wird nach Aktivierung der Thrombozyten ins Plasma freigesetzt (Muszbek et al. 1993, Korte 2006). Bei Operationen mit extrakorporaler Zirkulation sind fallende Thrombozytenzahlen sowie ein Anstieg der Thrombozytenaktivierungsmarker wie β -Thromboglobulin oder Platelet Factor 4 regulär zu vermerken (Hartmann et al. 2006, Cella et al. 1981). Auch in unserer Studie fand sich ein signifikanter Abfall in der Anzahl der zirkulierenden Thrombozyten.

6.4 Korrelation zwischen Faktor XIII-Aktivität und dem postoperativen Blutverlust

Postoperative Blutungen stellen eine schwerwiegende Komplikation nach kardiochirurgischen Eingriffen dar. Ursachen für diese sind meist multifaktoriell bedingt. Neben dem chirurgischen Trauma werden perioperative Hypothermie und Heparinisierung unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine, Hyperfibrinolyse, gestörte Thrombozytenfunktion sowie die sinkende Aktivität von Gerinnungsfaktoren, bedingt durch die intraoperative Hämodilution und der steigende Verbrauch der Gerinnungsfaktoren genannt (Paparella et al. 2004, Hartmann et al. 2006, Woodmann 1990).

In der vorliegenden Studie konnten signifikante Zusammenhänge zwischen der Faktor XIII-Aktivität zum direkt postoperativen Messzeitpunkt und dem 18 Stunden postoperativ bestimmten Blutverlust in ml festgestellt werden. Damit sind diese eigenen Ergebnisse mit Resultaten vorhandener Studien vergleichbar. Es ist festzustellen, dass bisher nur einige wenige Untersuchungen zur Korrelation zwischen der Faktor XIII-Aktivität und dem postoperativen Blutverlust publiziert wurden.

Shainoff et al. veröffentlichten 1993 erstmalig eine Untersuchung an 19 Patienten, die zur Reduktion postoperativer Blutungen nicht nur die antifibrinolytische Therapieoptionen berücksichtigte, sondern die Faktor XIII-Aktivität mit einbezog. Die Faktor XIII-Aktivität und der vermessene postoperative Blutverlust korrelierten hier signifikant invers in der perioperativen Phase, währenddessen postoperativ nur schwache Zusammenhänge ($p < 0,1$) festgestellt werden konnten (Shainoff et al. 1994).

Gödjé et al. verglichen zwei Gruppen kardiochirurgischer Patienten von denen die Hälfte postoperativ 2500 Einheiten Faktor XIII Konzentrat erhielten in Bezug auf Faktor XIII Plasmakonzentrationen und postoperativen Blutverlust. Am ersten und zweiten postoperativen Tag war anhand der Drainagevolumina ein signifikant niedrigerer Blutverlust in der Gruppe der Patienten, die ein Faktor XIII Konzentrat erhielten, festzustellen (Gödjé et al. 1998). Allerdings waren in diese Studie nur 22 Patienten eingeschlossen.

Um exaktere Aussagen über den Zusammenhang zwischen der Faktor XIII-Aktivität und dem postoperativen Blutverlust treffen zu können, wurden die in die eigene Studie eingeschlossenen Patienten nach ihrem postoperativen Blutverlust kategorisiert. Patienten, die einen Blutverlust unterhalb des gesetzten Cut-off-Punktes von 525 ml (Median des postoperativen Blutverlustes) hatten, wiesen eine signifikant höhere Aktivität des Faktor XIII direkt postoperativ auf.

Ähnliche Ergebnisse wurden durch die Arbeitsgruppe von Chandler et al. berichtet. Hier wurde zwei Stunden postoperativ eine inverse Korrelation zwischen der Faktor XIIIa-Antigen Konzentration und dem postoperativen Blutverlust bestimmt, die sich vier Stunden später nach der Gabe von Blut- und Plasmaprodukten wieder nivellierte (Chandler et al. 2001). Konträre Ergebnisse wurden durch die Arbeitsgruppe um Blome et al. publiziert, die sich mit der Beziehung zwischen der Faktor XIII-Aktivität, der Fibrinogenkonzentration und postoperativen Blutungen in der kardiopulmonalen Bypasschirurgie beschäftigten. Ein Einfluss der Faktor XIII-Aktivität auf postoperative Blutungen konnte nicht verifiziert werden (Blome et al. 2005). Vielmehr wurde ein Zusammenhang zwischen der präoperativen Fibrinogenkonzentration und dem postoperativen Blutverlust postuliert, welcher durch vorhergehende Studien mit gleichartigen Ergebnissen bestätigt wurde (Karlsson et al. 2008, Wahba et al. 1997, Fassin et al. 1991, Rahe-Meyer et al. 2009).

Die Rolle der präoperativen Fibrinogenkonzentration als Indikator postoperativer Blutungen und dem postoperativen Transfusionsbedarf wird in der Literatur jedoch unterschiedlich bewertet. In einer 2009 veröffentlichten Studie konnte der Zusammenhang zwischen einer niedrigen präoperativen Fibrinogenkonzentration und vermehrtem postoperativen Blutverlust bei kardiochirurgischen Eingriffen nicht bestätigt werden. Eruiert wurde aber eine schwache negative Korrelation zwischen der postoperativen Fibrinogenkonzentration und dem 24 Stunden postoperativen Blutverlust (Bolliger et al. 2009).

In einer Studie aus dem Jahr 2010, die in Studienaufbau und Patientenselektion mit der eigenen Arbeit zu vergleichen ist, wurde gleichermaßen ein inverser Zusammenhang zwischen den prä- und postoperativen Werten der Faktor XIII-Aktivität sowie der postoperativen Fibrinogenkonzentration und dem Auftreten von postoperativen Hämorrhagien bestätigt (Ternstrom et al. 2010).

Auch in der vorliegenden Studie konnte eine prädiktive Aussage der präoperativen Fibrinogenkonzentration auf den postoperativen Blutverlust nicht gesichert werden. Hoch signifikante Korrelationen zwischen der direkt postoperativen und 18 Stunden postoperativen Fibrinogenkonzentration und dem postoperativen Blutverlust werden durch diese Untersuchung ebenfalls bestätigt. Gründe für diese differierenden Resultate könnten in der zu geringen Patientenzahl der einzelnen Studien und den unterschiedlichen Studiendesigns liegen.

Durch eine in unserer Studie zusätzlich durchgeführten linearen Regressionsanalyse mit schrittweisem Variablenausschluss wurde der Einfluss der Faktor XIII-Aktivität auf den postoperativen Blutverlust gegenüber weiteren Gerinnungsparametern (Fibrinogenkonzentration, Thrombozytenzahl, Quick-Wert und aPTT) bestimmt. Eine niedrige postoperative Faktor XIII-Aktivität stellt hierbei einen signifikanten Risikofaktor für den postoperativen Blutverlust dar. Die präoperative Faktor XIII-Aktivität scheint jedoch keinen Einfluss den postoperativen Blutverlust zu haben.

Während chirurgischer Eingriffe unter extrakorporaler Zirkulation ist eine suffiziente Antikoagulation zu gewährleisten. Heparin hemmt über die massive Verstärkung der Antithrombin III-Wirkung die weitere Koagulation. Antithrombin III bildet physiologisch u.a. Komplexe mit den aktivierten Gerinnungsfaktoren Xa und Thrombin und reguliert hierdurch die Hämostase. Im Rückschluss hemmt die Heparinabgabe über die Inhibition der Thrombinwirkung somit auch die Faktor XIII-Aktivität und folglich auch seine fibrinstabilisierende Wirkung (Mutschler et al. 2008). Radulovic et al. untersuchten 2011 den Einfluss des Heparineffektes auf die postoperative Generierung von Thrombin. Sie führten die postoperative Reduktion der Thrombingenerierung hauptsächlich auf die Heparinrestwirkung zurück. Jedoch wurde keine signifikante Korrelation zwischen der postoperativen Faktor XIII-Aktivität und der Thrombingenerierung verifiziert, wie eigentlich zu vermuten wäre (Radulovic et al. 2012). Die direkt postoperativen Werte der Faktor XIII-Aktivität korrelieren in der vorliegenden Arbeit ebenfalls mit der Heparinabgabe. 18 Stunden postoperativ lässt sich kein Zusammenhang zwischen Faktor XIII-Aktivität und Heparin finden. Dies resultiert wahrscheinlich in der Antagonisierung des Heparins durch die Protaminabgabe.

Eine weitere wichtige Ursache des Blutverlustes bei chirurgischen Patienten könnte ein Mangel der Initiatorsubstanz Thrombin darstellen. Da Thrombin als wichtiger Aktivator des Faktor XIII gilt, würde eine verminderte Thrombinkonzentration folglich zu niedrigeren Faktor XIII-Aktivitätsraten führen. Diese resultiert in einer verminderten Quervernetzung der Fibrinmonomere, welche wiederum einen erhöhten Blutverlust zur Konsequenz hat (Davidson et al. 2003). Wettstein et al. untersuchten bei allgemein- und neurochirurgischen Patienten, sowie Patienten der Orthopädie und Urologie den intraoperativen Verlauf von Thrombinwerten und den Zusammenhang zwischen Thrombin und Faktor XIII. Es zeigte sich, dass Patienten, die intraoperativ einen relativen Mangel des Faktor XIII in Bezug auf vorhandenes Thrombin aufwiesen, auch postoperativ höhere Blutverluste erlitten (Wettstein et al. 2004).

Die Therapie mit Thrombozytenaggregationshemmern wie ASS und Clopidogrel wird im Hinblick auf postoperative Blutungen unter kardiopulmonalen Bypassoperationen kontrovers diskutiert. Einige Studien berichten hierbei von exzessiven Blutungen nach Operationen unter thrombozytenaggregationshemmender Therapie (Englberger et al. 2004, Hongo et al. 2002). 60 % der in der eigenen Studie eingeschlossenen Patienten nahmen in den letzten 10 Tagen vor der Operation Thrombozytenaggregationshemmer ein. Ein Effekt auf die prä- oder postoperative Faktor XIII-Aktivität oder die Fibrinogenkonzentration resultierend aus einer Therapie mit ASS oder Clopidogrel kann nicht gefunden werden. Auch kann keine signifikante Korrelation zwischen postoperativem Blutverlust und der erfolgten Therapie mit Thrombozytenaggregationshemmern festgestellt werden. Diese Ergebnisse bestätigt auch eine 2010 veröffentlichte Studie, die Patientengruppen mit ASS- und Clopidogreltherapie sowie Patienten ohne jegliche aggregationshemmende medikamentöse Therapie hinsichtlich der postoperativen Blutungsvolumina untersuchte (Badreldin et al. 2010).

6.5 Korrelation zwischen der Faktor XIII-Aktivität und ROTEM®

Der Prozess der Clotbildung und -stabilisierung wird durch verschiedene Parameter beeinflusst. Hierbei sind maßgeblich die Thrombingenerierung, die Fibrinogenkonzentration, die Thrombozytenzahl sowie Faktor XIII-Aktivität und die Plasminaktivierung zu nennen. Gerlach fand in einer 2002 veröffentlichten Studie die höchste Inzidenz für ein Auftreten von Nachblutungen nach neurochirurgischen Operationen auch bei geringfügiger Erniedrigung von Faktor XIII-Konzentration, Thrombozytenkonzentration und Fibrinogenkonzentration (Gerlach et al. 2002).

Um zu evaluieren welchen Einfluss die genannten Faktoren auf die ROTEM®-Parameter CT, CFT, MCF im EXTEM und MCF im FIBTEM haben, wurde zunächst eine Korrelationsanalyse zwischen den ROTEM®-Parametern und der Faktor XIII-Aktivität sowie den zusätzlich bestimmten Gerinnungsfaktoren Fibrinogenkonzentration, Thrombozytenzahl, Quick-Wert und aPTT durchgeführt.

Eine signifikante Beeinflussung der ROTEM®-Parameter CT, CFT und MCF durch die Faktor XIII-Aktivität konnte in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen werden. Hochsignifikante Zusammenhänge zeigen sich dabei besonders zum direkt postoperativen Zeitpunkt zwischen der CFT sowie der MCF und der Faktor XIII-Aktivität, wobei die CFT invers korreliert.

Der Einfluss der Faktor XIII-Aktivität auf die MCF konnte auch durch andere Autoren belegt werden. Allerdings war die Anzahl der eingeschlossenen Patienten in der vorliegenden Arbeit mit 99 wesentlich höher als in vorhergehenden Untersuchungen. Henderson wies bereits 1969 den Abfall der maximalen Amplitude im Thrombelastogramm nach Inhibition des Faktor XIII nach (Henderson und Nussbaum 1969). Nielsen et al. demonstrierten, dass die Faktor XIII-Aktivität für 60-70 % der MCF verantwortlich ist und zeigten 2005, dass eine Zugabe von Faktor XIIIa zu einer 40%ig verdünnten Plasmaprobe mit 0.9 % NaCl oder HES450 (Hydroxyethylstärke) zu einer deutlichen Steigerung der MCF führt (Nielsen 2005, Nielsen et al. 2007). Estner et al. konnten durch eine in vitro Substitution eines Faktor XIII-Präparates eine Zunahme der maximalen Gerinnselfestigkeit um 57 % zum postoperativen Messzeitpunkt registrieren (Estner 2001). Chandler et al. vermaßen neben der Faktor XIII-Konzentration während kardiopulmonalen Bypassoperationen auch Parameter der

Thrombelastographie. Hier konnte keine Korrelation zwischen der Faktor XIII-Konzentration und der MCF festgestellt werden. Begründet wurde dies durch die unterschiedliche Freisetzungsrates des aktivierten Faktor XIII aus den Thrombozyten, da nach Zugabe von rekombinantem Faktor XIII auch in dieser Studie eine positive Korrelation der Faktor XIII-Aktivität mit der MCF bestimmt werden konnte (Chandler et al. 2001). In einer 2004 publizierten Studie wurde im Plasma eines Faktor XIII-defizitären Patienten Faktor XIII unterschiedlicher Konzentrationen substituiert und im Thrombelastogramm (TEG[®]) vermessen. Faktor XIII verkürzte dabei konzentrationsabhängig die CFT und erhöhte die MCF (Nielsen et al. 2004). Schroeder und Kohler untersuchten 2010 den Einfluss der Faktor XIII-Aktivität auf Parameter der Rotationsthrombelastographie durch Vergleiche der Messwerte im Normalplasma und Plasma eines Patienten mit Faktor XIII-Mangel. Hierbei wurden signifikant niedrigere Werte der CFT in Faktor XIII-defizitärem Plasma im Vergleich zum Normalplasma registriert (Schroeder und Kohler 2010a). Theusinger et al. konnten innerhalb ihrer Studie durch Erhöhung der Faktor XIII-Aktivität weit über die physiologische Grenze hinaus (300 und 600 %) u.a. eine stark verkürzte CFT nachweisen. Eine dosisabhängige Wirkung des Faktor XIII auf die CFT wurde durch die genannten Studien ebenfalls nachgewiesen (Theusinger et al. 2010).

Durch ROTEM[®] ist es möglich mittels Testansatz FIBTEM die Thrombozytenfunktion durch die Zugabe von Cytochalasin D zu blockieren, sodass die weitere Bildung des Gerinnsels nur noch durch die Funktion der Fibrinpolymerisation bestimmt wird. Faktor XIII vernetzt die Fibrinmonomere untereinander und wird somit durch die FIBTEM Analyse der MCF indirekt mit qualifiziert. In der vorliegenden Studie konnte ebenfalls ein signifikanter Zusammenhang zwischen der MCF in FIBTEM und der Faktor XIII-Aktivität registriert werden. Diese Ergebnisse werden u.a. auch von Theusinger et al. bestätigt (Theusinger et al. 2010).

Neben der Faktor XIII-Aktivität wurden in unserer Studie auch die zusätzlichen Gerinnungsparameter Fibrinogenkonzentration, Thrombozytenzahl, aPTT und Quick-Wert mit in die Korrelationsanalyse eingeschlossen. Es zeigt sich eine hoch signifikante Korrelation der Fibrinogenkonzentration sowie der Thrombozytenzahl gegenüber der MCF. Dabei wird deutlich, dass der Zusammenhang zwischen

Faktor XIII-Aktivität und MCF wesentlich geringer ist als der Zusammenhang zwischen der Thrombozytenzahl oder der Fibrinogenkonzentration mit der Faktor XIII-Aktivität. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Shenkman et al. die nach in vitro Substitution von Faktor XIII und Fibrinogen einen positiven Effekt auf die MCF in ROTEM® lediglich nach Zugabe von Fibrinogen berichten konnten, während die Substitution von Faktor XIII nahezu keinen Effekt hatte (Shenkman et al. 2012).

Um die Wertigkeit der Faktor XIII-Aktivität und der weiteren untersuchten Gerinnungsparameter gegenüber der MCF im EXTEM und FIBTEM zu bestimmen, wurde neben der durchgeführten Korrelationsanalyse ebenfalls eine lineare Regressionsanalyse mit schrittweisem Variablenausschluss durchgeführt. Eine derartige Regressionsanalyse in Bezug auf die MCF im ROTEM® und den Gerinnungsparametern Fibrinogenkonzentration, Thrombozytenzahl, Quick-Wert, aPTT sowie der Faktor XIII-Aktivität wurde in der Literatur unserem Kenntnisstand nach bisher nicht beschrieben. Auch in der linearen Regressionsanalyse korrelieren in der vorliegenden Studie die Fibrinogenkonzentration und die Thrombozytenzahl hoch signifikant mit der MCF sowohl zum direkt postoperativen Messzeitpunkt als auch zum 18 Stunden postoperativen Messzeitpunkt. Wiederum erwies sich der Zusammenhang mit der Faktor XIII-Aktivität und der MCF eher niedrig signifikant. Im Vergleich zu Fibrinogenkonzentration und Thrombozytenzahl scheint die Faktor XIII-Aktivität in unserer Studie daher einen untergeordneten Stellenwert auf die MCF einzunehmen.

Zusätzlich wurden signifikante Korrelationen zwischen den klassischen Globaltests aPTT und Quick-Wert mit der MCF zum direkt postoperativen Messzeitpunkt ermittelt. In der linearen Regressionsanalyse korreliert die aPTT jedoch nicht mit den ROTEM®-Variablen. Dies könnte damit erklärt werden, dass der intrinsische Weg der Gerinnungskaskade, der durch Faktor XII und FXI initiiert und durch aPTT widerspiegelt wird, keine Bedeutung für die normale Hämostase haben soll. Allerdings scheinen Faktor XI und Faktor XII für die Entstehung von Thrombosen eine Rolle zu spielen (Woodruff et al. 2011, Muller und Renne 2008, Gailani und Renne 2007a, Gailani und Renne 2007b).

Ebenfalls konnte eine inverse Korrelation zwischen dem präoperativen Hämatokritwert und der postoperativen MCF festgestellt werden.

Eine negative Korrelation zwischen MCF und Hämatokrit wurden inzwischen auch von anderen Autoren nach in-vitro und ex-vivo Untersuchungen beschrieben (Nagler et al. 2013, Ogawa et al. 2012). Dieser Zusammenhang kann auch durch ein einfaches Experiment veranschaulicht werden. Abb. 21 zeigt ROTEM®-Messungen in Vollblut, im thrombozytenreichen und thrombozytenarmen Plasma eines gesunden Blutspenders. Die MCF im thrombozytenreichen Plasma ist um etwa 25 % höher als im Vollblut. Daraus folgt, dass geringere Thrombozytenzahlen die MCF vermindern, da sich die beiden Proben nicht in der Erythrozytenzahl oder der Fibrinogenkonzentration, die beide wesentlich die MCF bestimmen, unterscheiden. Denkbar ist, dass Erythrozyten durch eine Einlagerung in den Clot dessen Stabilität verringern. Für diese Hypothese gibt es jedoch noch keine Beweise. Die negative Korrelation zwischen den in der vorliegenden Studie beobachteten präoperativen Hämatokritwerten und ROTEM® MCF-Werten könnte aber auch durch individuelle Unterschiede in den Fibrinogenspiegeln bedingt sein. Hämatokrit und Fibrinogenspiegel weisen prä-, nicht aber postoperativ eine hoch signifikante Korrelation auf ($r = -0,41; p < 0,001$).

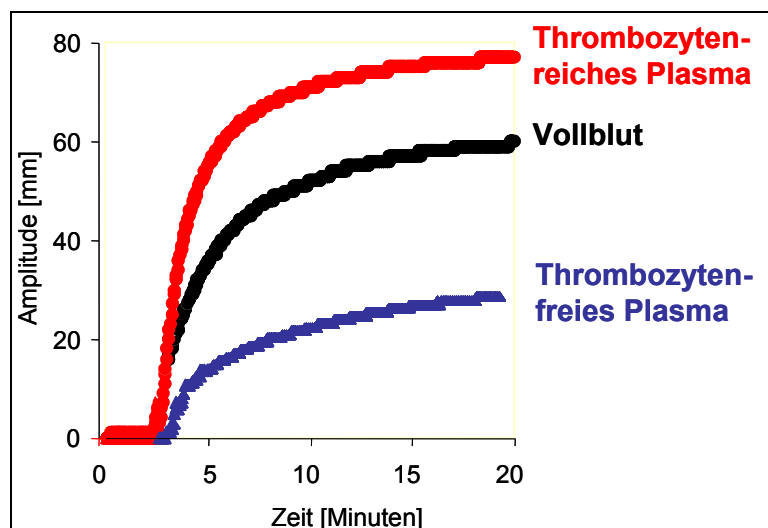


Abb. 21 ROTEM® (INTEM-Test) in Vollblut, thrombozytenreichen und -armen Plasma eines gesunden Blutspenders (Lösche 2012, unveröffentlichte Daten).

Eine nicht zu vernachlässigende Einflussgröße der ROTEM®-Parameter stellt die intra- und postoperative Substitution mit Kolloiden dar. Patienten die mit Kolloiden therapiert worden waren, wiesen 18 Stunden postoperativ eine signifikant verlängerte CFT und eine deutlich reduzierte MCF besonders im EXTEM aber auch im FIBTEM auf. Vergleichbare Ergebnisse liefern Studien der letzten Jahre. 2007 konnten Nielsen et al nach 30 %iger Verdünnung mit HES eine signifikant verlängerte CFT und eine Reduzierung der MCF verifizieren (Nielsen et al. 2007). Bestätigt werden diese Ergebnisse durch weitere Studien (Innerhofer et al. 2002, Mittermayr et al. 2007).

7. Schlussfolgerungen

Postoperative Hämorrhagien stellen bei kardiochirurgischen Patienten unter extrakorporaler Zirkulation ein multifaktorielles Ereignis dar. Ähnlich wie bei anderen Hämostasefaktoren vermindert sich die Aktivität des Faktor XIII durch den operativen Eingriff. Die postoperative Abnahme der Faktor XIII-Aktivität scheint mehr eine Folge der intraoperativen Hämodilution als ein Verbrauch zu sein. Der postoperative Blutverlust korreliert invers mit der postoperativen Faktor XIII-Aktivität. Die Korrelation liegt in der gleichen Größenordnung wie die Korrelation mit den postoperativen Werten des Plasmafibrinogens und dem ROTEM®-Parameter MCF ($r = -0,239 \dots 0,264$). Die Bedeutung des Faktor XIII für den postoperativen Blutverlust ergibt sich auch aus den Daten einer multivariaten Regressionsanalyse unter Einschluss der verschiedenen Hämostaseparameter. Signifikante Beziehungen wurden dabei nur zur Faktor XIII-Aktivität und zum Quick-Wert gefunden.

ROTEM® findet zunehmend Einsatz für die patientennahe Diagnostik perioperativer Hämostasestörungen. Im Vergleich zu Thrombozytenzahl und Fibrinogenspiegel hat die Faktor XIII-Aktivität einen wesentlich geringeren Einfluss auf die maximale Clotfestigkeit MCF. Die zeit- und kostenintensive Bestimmung der Faktor XIII-Aktivität zur Abschätzung und Diagnostik des Blutungsrisikos erscheint damit sehr fraglich. Ebenso fraglich bleibt der mögliche Benefit einer kostenintensiven Substitution mit Faktor XIII bei kritischem postoperativen Blutverlust. Hier scheint eine Substitution mit Fibrinogen oder Thrombozytenkonzentraten erfolgversprechender.

8. Literaturverzeichnis

- Ahmad F, Solymoss S, Poon MC, Berube C, Sullivan AK. 1996. Characterization of an acquired IgG inhibitor of coagulation factor XIII in a patient with systemic lupus erythematosus. *Br J Haematol*, 93 (3):700-703.
- Ajzner E, Schlammadinger A, Kerenyi A, Bereczky Z, Katona E, Haramura G, Boda Z, Muszbek L. 2009. Severe bleeding complications caused by an autoantibody against the B subunit of plasma factor XIII: a novel form of acquired factor XIII deficiency. *Blood*, 113 (3):723-725.
- Akiyama H, Kondo H, Ikeda K, Arai T, Kato M, McGleer PL. 1995. Immunohistochemical detection of coagulation factor XIIIa in postmortem human brain tissue. *Neuroscience letters*, 202 (1-2):29-32.
- Anwar R, Miloszewski KJ. 1999. Factor XIII deficiency. *Br J Haematol*, 107 (3):468-484.
- Ariens RA, Philippou H, Nagaswami C, Weisel JW, Lane DA, Grant PJ. 2000. The factor XIII V34L polymorphism accelerates thrombin activation of factor XIII and affects cross-linked fibrin structure. *Blood*, 96 (3):988-995.
- Asijee GM, Muszbek L, Kappelmayer J, Polgar J, Horvath A, Sturk A. 1988. Platelet vinculin: a substrate of activated factor XIII. *Biochimica et biophysica acta*, 954 (3):303-308.
- Badreldin A, Kroener A, Kamiya H, Lichtenberg A, Hekmat K. 2010. Effect of clopidogrel on perioperative blood loss and transfusion in coronary artery bypass graft surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 10 (1):48-52.
- Bale MD, Mosher DF. 1986. Thrombospondin is a substrate for blood coagulation factor XIIIa. *Biochemistry*, 25 (19):5667-5673.
- Belleville J, Paul J, Ollat G, Broyer P. 1977. Coagulation deficits and hemorrhagic consequences after cardiac surgery under ECC. *Ann Anesthesiol Fr*, 18 (1):51-61.
- Bereczky Z, Katona E, Muszbek L. 2003. Fibrin stabilization (factor XIII), fibrin structure and thrombosis. *Pathophysiology of haemostasis and thrombosis*, 33 (5-6):430-437.
- Biland L, Duckert F, Prissner S, Nyman D. 1978. Quantitative estimation of coagulation factors in liver disease. The diagnostic and prognostic value of factor XIII, factor V and plasminogen. *Thromb Haemost*, 39 (3):646-656.
- Bini A, Fenoglio JJ, Jr., Mesa-Tejada R, Kudryk B, Kaplan KL. 1989. Identification and distribution of fibrinogen, fibrin, and fibrin(ogen) degradation products in atherosclerosis. Use of monoclonal antibodies. *Arteriosclerosis*, 9 (1):109-121.
- Blome M, Isgro F, Kiessling AH, Skuras J, Haubelt H, Hellstern P, Saggau W. 2005. Relationship between factor XIII activity, fibrinogen, haemostasis screening tests and postoperative bleeding in cardiopulmonary bypass surgery. *Thromb Haemost*, 93 (6):1101-1107.
- Board PG. 1979. Genetic polymorphism of the A subunit of human coagulation factor XIII. *American journal of human genetics*, 31 (2):116-124.
- Board PG, Losowsky MS, Miloszewski KJ. 1993. Factor XIII: inherited and acquired deficiency. *Blood Rev*, 7 (4):229-242.
- Bolliger D, Gonsahn M, Levy JH, Williams WH, Tanaka KA. 2009. Is preoperative fibrinogen predictive for postoperative bleeding after coronary artery bypass grafting surgery? *Transfusion*, 49 (9):2006-2008.

- Calatzis A, Spannagl M, Vorweg M. 2005. Zielgerichtete Behandlung akuter Hämostasestörungen mit Hilfe der ROTEM-Analyse [Herstellerinformation]. Pentapharm GmbH München.
- Catto AJ, Kohler HP, Coore J, Mansfield MW, Stickland MH, Grant PJ. 1999. Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with venous thrombosis. *Blood*, 93 (3):906-908.
- Cella G, Vittadello O, Gallucci V, Girolami A. 1981. The release of beta-thromboglobulin and platelet factor 4 during extracorporeal circulation for open heart surgery. *Eur J Clin Invest*, 11 (3):165-169.
- Chandler WL, Patel MA, Gravelle L, Soltow LO, Lewis K, Bishop PD, Spiess BD. 2001. Factor XIIIa and clot strength after cardiopulmonary bypass. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis*, 12 (2):101-108.
- Chenoweth D, Cooper S, Hugli T, Stuart R, Blackstone E, Kirklin J. 1981. Complement activation during cardiopulmonary bypass: evidence for generation of C3a and C5a anaphylatoxins. *The New England journal of medicine*, 304:497-503.
- Clade H. 2010. Kardiologie/ Herzchirurgie Flächendeckend und auf hohem Niveau. *Deutsches Ärzteblatt*, 7 (107):51.
- Corral J, Gonzalez-Conejero R, Iniesta JA, Rivera J, Martinez C, Vicente V. 2000. The FXIII Val34Leu polymorphism in venous and arterial thromboembolism. *Haematologica*, 85 (3):293-297.
- Cox AD, Devine DV. 1994. Factor XIIIa binding to activated platelets is mediated through activation of glycoprotein IIb-IIIa. *Blood*, 83 (4):1006-1016.
- Dardik R, Loscalzo J, Eskaraev R, Inbal A. 2005. Molecular mechanisms underlying the proangiogenic effect of factor XIII. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 25 (3):526-532.
- Dardik R, Solomon A, Loscalzo J, Eskaraev R, Bialik A, Goldberg I, Schiby G, Inbal A. 2003. Novel proangiogenic effect of factor XIII associated with suppression of thrombospondin 1 expression. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 23 (8):1472-1477.
- Davalos D, Akassoglou K. 2012. Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease. *Semin Immunopathol*, 34 (1):43-62.
- Davidson SJ, Burman JF, Philips SM, Onis SJ, Kelleher AA, De Souza AC, Pepper JR. 2003. Correlation between thrombin potential and bleeding after cardiac surgery in adults. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 14 (2):175-179.
- Despotis GJ, Gravlee G, Filos K, Levy J. 1999. Anticoagulation Monitoring during Cardiac Surgery *Anesthesiology*, 91:1122-1151.
- Despotis GJ, Santoro SA, Spitznagel E, Kater KM, Cox JL, Barnes P, Lappas DG. 1994. Prospective evaluation and clinical utility of on-site monitoring of coagulation in patients undergoing cardiac operation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 107 (1):271-279.
- Duckert F, Jung E, Shmerling DH. 1960. A hitherto undescribed congenital haemorrhagic diathesis probably due to fibrin stabilizing factor deficiency. *Thrombosis et diathesis haemorrhagica*, 5:179-186.
- Elbaz A, Poirier O, Canaple S, Chedru F, Cambien F, Amarenco P. 2000. The association between the Val34Leu polymorphism in the factor XIII gene and brain infarction. *Blood*, 95 (2):586-591.
- Englberger L, Faeh B, Berdat PA, Eberli F, Meier B, Carrel T. 2004. Impact of clopidogrel in coronary artery bypass grafting. *Eur J Cardiothorac Surg*, 26 (1):96-101.

- Estner ME. 2001. Effekte von Faktor XIII auf die Gerinnselbildung und Gerinnselfestigkeit vor und nach herzchirurgischen Eingriffen [Dissertation]. München: Technische Universität
- Fassin W, Himpe D, Alexander JP, Borms S, Theunissen W, Muylaert P, Van Cauwelaert P. 1991. Predictive value of coagulation testing in cardiopulmonary bypass surgery. *Acta anaesthesiologica Belgica*, 42 (4):191-198.
- Fischlein T. 2000. Gerinnungsstörungen in der Herzchirurgie *Hamostaseologie*, 20 (2):110-116.
- Fisher S, Rikover M, Naor S. 1966. Factor 13 deficiency with severe hemorrhagic diathesis. *Blood*, 28 (1):34-39.
- Fraser S, Booth N, Mutch N. 2011. The antifibrinolytic function of factor XIII is exclusively expressed through $\alpha 2$ -antiplasmin crosslinking. *Blood*, 117 (23):6371-6374.
- Friedrich I, Simm A, Kotting J, Tholen F, Fischer B, Silber RE. 2009. Cardiac surgery in the elderly patient. *Dtsch Arztebl*, 106 (25):416-422.
- Gailani D, Renne T. 2007a. Intrinsic pathway of coagulation and arterial thrombosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 27 (12):2507-2513.
- Gailani D, Renne T. 2007b. The intrinsic pathway of coagulation: a target for treating thromboembolic disease? *Journal of thrombosis and haemostasis* : JTH, 5 (6):1106-1112.
- Gemmati D, Serino ML, Ongaro A, Tognazzo S, Moratelli S, Resca R, Moretti M, Scapoli GL. 2001. A common mutation in the gene for coagulation factor XIII-A (VAL34Leu): a risk factor for primary intracerebral hemorrhage is protective against atherothrombotic diseases. *Am J Hematol*, 67 (3):183-188.
- Gerlach R, Raabe A, Zimmermann M, Siegemund A, Seifert V. 2000. Factor XIII deficiency and postoperative hemorrhage after neurosurgical procedures. *Surgical neurology*, 54 (3):260-264; discussion 264-265.
- Gerlach R, Tolle F, Raabe A, Zimmermann M, Siegemund A, Seifert V. 2002. Increased risk for postoperative hemorrhage after intracranial surgery in patients with decreased factor XIII activity: implications of a prospective study. *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 33 (6):1618-1623.
- Gierhake FW, Papastavrou N, Zimmermann K, Bohn H, Schwick HG. 1974. Prophylaxis of post-operative disturbances of wound healing with factor XIII substitution. *Dtsch Med Wochenschr*, 99 (19):1004-1009.
- Godje O, Haushofer M, Lamm P, Reichart B. 1998. The effect of factor XIII on bleeding in coronary surgery. *Thorac Cardiovasc Surg*, 46 (5):263-267.
- Haas T, Korte W, Spielmann N, Mauch J, Madjdpour C, Schmugge M, Weiss M. 2011. Perioperative course of FXIII in children undergoing major surgery. *Paediatr Anaesth*.
- Hada M, Kaminski M, Bockenstedt P, McDonagh J. 1986. Covalent crosslinking of von Willebrand factor to fibrin. *Blood*, 68 (1):95-101.
- Hartert H. 1948. "Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren". *Klin Wochenschr*, 37-38 (26):578-583.
- Hartmann M, Boehm O, Koch A, Loer S, Zacharowski K. 2005. Das Gerinnungssystem während extrakorporaler Zirkulation. *Kardiotechnik*, 2 (14):43-48.
- Hartmann M, Sucker C, Boehm O, Koch A, Loer S, Zacharowski K. 2006. Effects of cardiac surgery on hemostasis. *Transfus Med Rev*, 20 (3):230-241.

- Haubitz I. 1995. Beschreibung statistischer Methoden [Unveröffentlichte Ausgabe]. Würzburg.
- Heimark RL, Kurachi K, Fujikawa K, Davie EW. 1980. Surface activation of blood coagulation, fibrinolysis and kinin formation. *Nature*, 286 (5772):456-460.
- Henderson KW, Nussbaum M. 1969. Mechanism of enhanced streptokinase-induced clot lysis following in-vitro factor-XIII inactivation. *Br J Haematol*, 17 (5):445-453.
- Hoffman M. 2003. A cell-based model of coagulation and the role of factor VIIa. *Blood reviews*, 17 Suppl 1:1-5.
- Hoffman M, Monroe DM, 3rd. 2003. The action of high-dose factor VIIa (FVIIa) in a cell-based model of hemostasis. *Disease-a-month : DM*, 49 (1):14-21.
- Hongo RH, Ley J, Dick SE, Yee RR. 2002. The effect of clopidogrel in combination with aspirin when given before coronary artery bypass grafting. *J Am Coll Cardiol*, 40 (2):231-237.
- Inbal A, Muszbek L. 2003. Coagulation factor deficiencies and pregnancy loss. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 29 (2):171-174.
- Innerhofer P, Fries D, Margreiter J, Klingler A, Kuhbacher G, Wachter B, Oswald E, Salner E, Frischhut B, Schobersberger W. 2002. The effects of perioperatively administered colloids and crystalloids on primary platelet-mediated hemostasis and clot formation. *Anesth Analg*, 95 (4):858-865.
- Ivaskevicius V. 2008. Genetik und Klinik der seltenen autosomal rezessiven hämorrhagischen Diathesen. *Medizinische Genetik*, 20:204-210.
- Ivaskevicius V, Seitz R, Kohler HP, Schroeder V, Muszbek L, Ariens RA, Seifried E, Oldenburg J. 2007. International registry on factor XIII deficiency: a basis formed mostly on European data. *Thrombosis and haemostasis*, 97 (6):914-921.
- Janus TJ, Lewis SD, Lorand L, Shafer JA. 1983. Promotion of thrombin-catalyzed activation of factor XIII by fibrinogen. *Biochemistry*, 22 (26):6269-6272.
- Kadir R, Chi C, Bolton-Maggs P. 2009. Pregnancy and rare bleeding disorders. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*, 15 (5):990-1005.
- Kahn DR, Cohen I. 1981. Factor XIIIa-catalyzed coupling of structural proteins. *Biochimica et biophysica acta*, 668 (3):490-494.
- Karimi M, Bereczky Z, Cohan N, Muszbek L. 2009. Factor XIII Deficiency. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 35 (4):426-438.
- Karlsson M, Ternstrom L, Hyllner M, Baghaei F, Nilsson S, Jeppsson A. 2008. Plasma fibrinogen level, bleeding, and transfusion after on-pump coronary artery bypass grafting surgery: a prospective observational study. *Transfusion*, 48 (10):2152-2158.
- Karpati L, Penke B, Katona E, Balogh I, Vamosi G, Muszbek L. 2000. A modified, optimized kinetic photometric assay for the determination of blood coagulation factor XIII activity in plasma. *Clinical chemistry*, 46 (12):1946-1955.
- Katona E, Haramura G, Karpati L, Fachet J, Muszbek L. 2000. A simple, quick one-step ELISA assay for the determination of complex plasma factor XIII (A2B2). *Thrombosis and haemostasis*, 83 (2):268-273.
- Kohler HP, Schroder V. 2002. Role of coagulation factor XIII in cardio- and cerebrovascular diseases. *Hamostaseologie*, 22 (1):53-58.
- Korte W. 2006. Fibrin monomer and factor XIII: a new concept for unexplained intraoperative coagulopathy. *Hamostaseologie*, 26 (3 Suppl 1):30-35.

- Lang T, Von Debka M. 2006. Diagnostische Möglichkeiten und Grenzen der Thrombelastometrie/-graphie. *Hamostaseologie*, 26:20-29.
- Lorand L. 2005. Factor XIII and the clotting of fibrinogen: from basic research to medicine. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*, 3 (7):1337-1348.
- Lorand L, Graham M. 2003. Transglutaminases: crosslinking enzymes with pleiotropic functions. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 4 (2):140-156.
- Lorand L, Losowsky MS, Miloszewski KJ. 1980. Human factor XIII: fibrin-stabilizing factor. *Prog Hemost Thromb*, 5:245-290.
- Lusher J, Pipe SW, Alexander S, Nugent D. 2010. Prophylactic therapy with Fibrogammin P is associated with a decreased incidence of bleeding episodes: a retrospective study. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*, 16 (2):316-321.
- Mannucci M. 2003. No evidence of association between prothrombotic gene polymorphisms and the development of acute myocardial infarction at a young age. *Circulation*, 107 (8):1117-1122.
- Martin MT, Lefebvre F, Rabaud M, Graves PV. 1988. Biochemical study of adduct synthesis between fibrin monomers and elastin. *Biomaterials*, 9 (6):519-524.
- McDevitt NB, McDonagh J, Taylor HL, Roberts HR. 1972. An acquired inhibitor to factor XIII. *Archives of internal medicine*, 130 (5):772-777.
- McDonagh J, McDonagh RP, Jr., Delage JM, Wagner RH. 1969. Factor XIII in human plasma and platelets. *J Clin Invest*, 48 (5):940-946.
- Mittermayr M, Streif W, Haas T, Fries D, Velik-Salchner C, Klingler A, Oswald E, Bach C, Schnapka-Koepf M, Innerhofer P. 2007. Hemostatic changes after crystalloid or colloid fluid administration during major orthopedic surgery: the role of fibrinogen administration. *Anesth Analg*, 105 (4):905-917.
- Muller F, Renne T. 2008. Novel roles for factor XII-driven plasma contact activation system. *Current opinion in hematology*, 15 (5):516-521.
- Muszbek L, Polgar J, Boda Z. 1993. Platelet factor XIII becomes active without the release of activation peptide during platelet activation. *Thromb Haemost*, 69 (3):282-285.
- Muszbek L, Yee VC, Hevessy Z. 1999. Blood coagulation factor XIII: structure and function. *Thrombosis research*, 94 (5):271-305.
- Muszbek L, Bagoly Z, Bereczky Z, Katona E. 2008. The involvement of blood coagulation factor XIII in fibrinolysis and thrombosis. *Cardiovascular & hematological agents in medicinal chemistry*, 6 (3):190-205.
- Muszbek L, Bagoly Z, Cairo A, Peyvandi F. 2011. Novel aspects of factor XIII deficiency. *Curr Opin Hematol*, 18 (5):366-372.
- Muszbek L, Bereczky Z, Bagoly Z, Shemirani AH, Katona E. 2010. Factor XIII and atherothrombotic diseases. *Semin Thromb Hemost*, 36 (1):18-33.
- Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Ruth P, Schäfer-Korting M. 2008. Herz-Kreislauf-System. In: Mutschler E, Hrsg. *Mutschler Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*. Neunte Aufl. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.
- Nagler M, Kathriner S, Bachmann LM, Wuillemin WA. 2013. Impact of changes in haematocrit level and platelet count on thromboelastometry parameters. *Thrombosis research*, 131 (3):249-253.
- Nielsen VG. 2005. Colloids decrease clot propagation and strength: role of factor XIII-fibrin polymer and thrombin-fibrinogen interactions. *Acta Anaesthesiol Scand*, 49:1163-1171.

- Nielsen VG, Gurley WQ, Jr., Burch TM. 2004. The impact of factor XIII on coagulation kinetics and clot strength determined by thrombelastography. *Anesthesia and analgesia*, 99 (1):120-123.
- Nielsen VG, Steenwyk BL, Gurley WQ. 2006. Contact activation prolongs clot lysis time in human plasma: role of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor and Factor XIII. *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation*, 25 (10):1247-1252.
- Nielsen VG, Kirklin JK, Hoogendoorn H, Ellis TC, Holman W. 2007. Thrombelastographic method to quantify the contribution of factor XIII to coagulation kinetics. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 18:145-150.
- Nijenhuis AV, van Bergeijk L, Huijgens PC, Zweegman S. 2004. Acquired factor XIII deficiency due to an inhibitor: a case report and review of the literature. *Haematologica*, 89 (5):ECR14.
- Noll T, Wozniak G. 2002. Factor XIII and endothelial barrier function. *Hamostaseologie*, 22 (1):28-31.
- Nugent DJ. 2006. Prophylaxis in rare coagulation disorders -- factor XIII deficiency. *Thrombosis research*, 118 Suppl 1:S23-28.
- O'Carroll-Kuehn BU, Meeran H. 2011. Management of coagulation during cardiopulmonary bypass. *Contin Educ Anaesth Crit Care Pain*, 113 (6):1319-1333.
- Oertel K, Hunfeld A, Specker E, Reiff C, Seitz R, Pasternack R, Dodt J. 2007. A highly sensitive fluorometric assay for determination of human coagulation factor XIII in plasma. *Analytical biochemistry*, 367 (2):152-158.
- Ogawa S, Szlam F, Bolliger D, Nishimura T, Chen EP, Tanaka KA. 2012. The impact of hematocrit on fibrin clot formation assessed by rotational thromboelastometry. *Anesthesia and analgesia*, 115 (1):16-21.
- Paparella D, Brister S, Buchanan M. 2004. Coagulation disorders of cardiopulmonary bypass: a review. *Intensive Care Med*, 30:1873-1881.
- Parameswaran KN, Cheng XF, Chen EC, Velasco PT, Wilson JH, Lorand L. 1997. Hydrolysis of gamma:epsilon isopeptides by cytosolic transglutaminases and by coagulation factor XIIIa. *J Biol Chem*, 272 (15):10311-10317.
- Petrides P. 2007. Blut. In: Löffler G, Petrides P, Hrsg. *Biochemie&Pathobiochemie*. Heidelberg: Springer Verlag, 1016-1026.
- Petroianu GA, Maleck WH, Koetter KP, Liu J, Schmitt A. 2003. Effect of in vitro hemodilution with hydroxyethyl starch and dextran on the activity of plasma clotting factors. *Critical care medicine*, 31 (1):250-254.
- Pfanner G, Koscielny J, Pernerstorfe R, Gütl M, Perger P, Fries D, Hofmann N, Innerhofer P, Kneifl W, Neuner L. 2007. Präoperative Blutungsanamnese Empfehlungen der Arbeitsgruppe perioperative Gerinnung der Österreichischen Gesellschaft für Anästhesiologie, Reanimation und Intensivmedizin. *Anaesthesist*, 56 (6):604-611.
- Pötzsch B. 1998. Faktor XIII: Biochemie, Molekularbiologie und Physiologie. In: Müller-Berghaus G PB, Hrsg. *Hämostaseologie*. Berlin, Heidelberg:: Springer Verlag 291-298.
- Prasa D, Sturzebecher J. 2002. [Inhibitors of factor XIIIa]. *Hamostaseologie*, 22 (1):43-47.
- Preissner KT. 2010. Regulation der plasmatischen Gerinnungskaskade. In: Madlener K, Pötzsch B, Hrsg. *Hämostaseologie*. Zweite Aufl. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 124-127.

- Prince CW, Dickie D, Krumdieck CL. 1991. Osteopontin, a substrate for transglutaminase and factor XIII activity. *Biochemical and biophysical research communications*, 177 (3):1205-1210.
- Procyk R, Adamson L, Block M, Blomback B. 1985. Factor XIII catalyzed formation of fibrinogen-fibronectin oligomers--a thiol enhanced process. *Thrombosis research*, 40 (6):833-852.
- Radulovic V, Hyllner M, Ternstrom L, Karlsson M, Bylock A, Hansson KM, Baghaei F, Jeppsson A. 2012. Sustained heparin effect contributes to reduced plasma thrombin generation capacity early after cardiac surgery. *Thromb Res*.
- Rahe-Meyer N, Pichlmaier M, Haverich A, Solomon C, Winterhalter M, Piepenbrock S, Tanaka KA. 2009. Bleeding management with fibrinogen concentrate targeting a high-normal plasma fibrinogen level: a pilot study. *Br J Anaesth*, 102 (6):785-792.
- Rallidis LS, Politou M, Kompourzos C, Panagiotakos DB, Belessi CI, Travlou A, Lekakis J, Kremastinos DT. 2008. Factor XIII Val34Leu polymorphism and the risk of myocardial infarction under the age of 36 years. *Thromb Haemost*, 99 (6):1085-1089.
- Reinhöfer M. 2007. Untersuchungen zur diagnostischen Wertigkeit der Rotationsthrombelastometrie für die Erkennung von Hämostasestörungen bei Patienten mit kardiopulmonalen Bypass [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller- Universität.
- Ritchie H, Robbie L, Kinghorn S, Exley R, Booth N. 1999. Monocyte plasminogen activator inhibitor 2 (PAI-2) inhibits u-PA-mediated fibrin clot lysis and is cross-linked to fibrin. *Thromb Haemost*, 81 (1):96-103.
- Sane DC, Moser TL, Phippen AM, Parker CJ, Achyuthan KE, Greenberg CS. 1988. Vitronectin is a substrate for transglutaminases. *Biochemical and biophysical research communications*, 157 (1):115-120.
- Schroeder V, Kohler HP. 2010a. Thrombelastographic studies on factor XIII. *Thromb Haemost*, 104 (6):1277-1279.
- Schroeder V, Kohler H-P. 2010b. Faktor XIII. In: Pötzsch B, Madlener K, Hrsg. *Hämostaseologie*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag 220-225.
- Schwartz ML, Pizzo SV, Hill RL, McKee PA. 1971. The subunit structures of human plasma and platelet factor XIII (fibrin-stabilizing factor). *The Journal of biological chemistry*, 246 (18):5851-5854.
- Shafey M, Anderson JL, Scarvelis D, Doucette SP, Gagnon F, Wells PS. 2007. Factor XIII Val34Leu variant and the risk of myocardial infarction: a meta-analysis. *Thromb Haemost*, 97 (4):635-641.
- Shainoff JR, Estafanous FG, Yared JP, DiBello PM, Kottke-Marchant K, Loop FD. 1994. Low factor XIII levels are associated with increased blood loss after coronary artery bypass grafting. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 108 (3):437-445.
- Shemirani AH, Pongracz E, Antalffy B, Adany R, Muszbek L. 2010. Factor XIII A subunit Val34Leu polymorphism in patients suffering atherothrombotic ischemic stroke. *Thrombosis Res*, 126 (2):159-162.
- Shenkman B, Livnat T, Misgav M, Budnik I, Einav Y, Martinowitz U. 2012. The in vivo effect of fibrinogen and factor XIII on clot formation and fibrinolysis in Glanzmann's thrombasthenia. *Platelets*, 23 (8):604-610.
- Silvain J, Pena A, Vignalou JB, Hulot JS, Galier S, Cayla G, Bellemain-Appaix A, Barthelemy O, Beygui F, Bal-dit-Sollier C, Drouet L, Weisel JW, Montalescot G, Collet JP. 2011. FXIII-A Leu34 genetic variant in premature

- coronary artery disease: a genotype--phenotype case control study. *Thromb Haemost*, 106 (3):511-520.
- Slowik A, Dziedzic T, Pera J, Figlewicz DA, Szczudlik A. 2005. Coagulation factor XIII Val34Leu polymorphism in patients with small vessel disease or primary intracerebral hemorrhage. *Cerebrovasc Dis*, 19 (3):165-170.
- Smith KA, Pease RJ, Avery CA, Brown JM, Adamson PJ, Cooke EJ, Neergaard-Petersen S, Cordell PA, Ariens RA, Fishwick CW, Philippou H, Grant PJ. 2013. The activation peptide cleft exposed by thrombin cleavage of FXIII-A(2) contains a recognition site for the fibrinogen alpha chain. *Blood*, 121 (11):2117-2126.
- Sniecinski R, Chandler W. 2011. Activation of the Hemostatic System During Cardiopulmonary Bypass. *Anesth Analg*, 113 (6):1319-1333.
- Song JW, Choi JR, Song KS, Rhee JH. 2006. Plasma factor XIII activity in patients with disseminated intravascular coagulation. *Yonsei medical journal*, 47 (2):196-200.
- Song YC, Sheng D, Taubenfeld SM, Matsueda GR. 1994. A microtiter assay for factor XIII using fibrinogen and biotinylcadaverine as substrates. *Anal Biochem*, 223 (1):88-92.
- Sossdorf M, Marx S, Schaarschmidt B, Otto G, Claus R, Reinhart K, Hartog C, Lösche W. 2009. HES 130/0.4 impairs haemostasis and stimulates pro-inflammatory blood platelet function. *Crit Care*, 13 (6):R208.
- Spalding GJ, Hartrumpf M, Sierig T, Oesberg N, Kirschke CG, Albes JM. 2007. [Bedside thrombelastography. Cost reduction in cardiac surgery]. *Anaesthesist*, 56 (8):765-771.
- Spannagl M. 1998. Hämorrhagische Diathesen. In: Müller-Berghaus G PB, Hrsg. *Hamostaseologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 380-381.
- Ternstrom L, Radulovic V, Karlsson M, Baghaei F, Hyllner M, Bylock A, Hansson KM, Jeppsson A. 2010. Plasma activity of individual coagulation factors, hemodilution and blood loss after cardiac surgery: a prospective observational study. *Thrombosis Res*, 126 (2):128-133.
- Theusinger OM, Baulig W, Asmis LM, Seifert B, Spahn DR. 2010. In vitro factor XIII supplementation increases clot firmness in Rotation Thromboelastometry (ROTEM). *Thromb Haemost*, 104 (2):385-391.
- Vance G, Nielsen JKK, Hugh Hoogendoorn C, Truitt C, Ellis A, Holman WL. 2007. Thrombelastographic method to quantify the contribution of factor XIII to coagulation kinetics. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*, 18:145-150.
- Wagner B, Seyfert UT, Gosse M, Wenzel E, Fickenscher K, Ruhl HG. 1994. Determination of factor XIII activity by a new photometric assay in plasma and platelets of healthy blood donors. *Thrombosis Res*, 74 (2):169-174.
- Wahba A, Rothe G, Lodes H, Barlage S, Schmitz G, Birnbaum DE. 1997. Predictors of blood loss after coronary artery bypass grafting. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia*, 11 (7):824-827.
- Weber CF, Jambor C, Marquardt M, Görlinger K, Zwissler B. 2008. Erfassung eines Faktor-XIII-Mangels mit der Thrombelastometrie. *Der Anaesthesist*, 5:487-490.
- Weber CF, Sanders JO, Friedrich K, Gerlach R, Platz J, Miesbach W, Hanke AA, Hofstetter C. 2011. Role of thrombelastometry for the monitoring of factor XIII. A prospective observational study in neurosurgical patients. *Hamostaseologie*, 31 (2):111-117.

- Weiss G, Lison S, Spannagl M, Heindl B. 2010. Expressiveness of global coagulation parameters in dilutional coagulopathy. *Br J Anaesth*, 105 (4):429-436.
- Wettstein P, Haeberli A, Stutz M, Rohner M, Corbetta C, Gabi K, Schnider T, Korte W. 2004. Decreased factor XIII availability for thrombin and early loss of clot firmness in patients with unexplained intraoperative bleeding. *Anesth Analg*, 99 (5):1564-1569.
- Wilhelmsen L, Svardsudd K, Korsan-Bengtson K, Larsson B, Welin L, Tibblin G. 1984. Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *The New England journal of medicine*, 311 (8):501-505.
- Wilmer M, Schroder V, Kohler HP. 2002. Methods for the determination of factor XIII/XIIIa. *Hamostaseologie*, 22 (1):32-42.
- Woodmann RH, LA. 1990. Bleeding complications associated with cardiopulmonary bypass. *Blood* 76 (9):1680-1697.
- Woodruff RS, Sullenger B, Becker RC. 2011. The many faces of the contact pathway and their role in thrombosis. *Journal of thrombosis and thrombolysis*, 32 (1):9-20.
- Wozniak G, Noll T. 2002. Factor XIII and wound healing. *Hamostaseologie*, 22 (1):59-62.
- Yamada T, Yoshiyama Y, Kawaguchi N, Ichinose A, Iwaki T, Hirose S, Jefferies WA. 1998. Possible roles of transglutaminases in Alzheimer's disease. *Dementia and geriatric cognitive disorders*, 9 (2):103-110.
- Zander N. 2007. FXIII. In: Bruhn HD, Hach-Wunderle V, Schambeck CM, Hrsg. *Hämostaseologie für die Praxis: Sicher durch den klinischen Alltag*. Stuttgart: Schattauer GmbH, 69-70.

9. Anhang

9.1 Danksagung

Mein Dank gilt insbesondere Herrn PD Dr. med. Wolfgang Lösche für die Überlassung des Themas und die fortwährende Unterstützung, Hilfestellung und Motivation bei der Erarbeitung, Verfassung und Präsentation der vorliegenden Arbeit.

Weiterhin danke ich Herrn Dr. phil Maik Soßdorf sowie dem Laborteam des Fachbereiches Experimentelle Anästhesie der Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin des Universitätsklinikums Jena, die mir während der Versuchsplanung und -durchführung immer mit Rat und Tat zur Seite standen.

Frau Dr. Imme Haubitz danke ich für die freundlichen Erklärungen und die Hilfe zur statistischen Auswertung der verwendeten Daten.

Für die unentwegte Remotivation, die entgegengebrachte Unterstützung und das Interesse welches ich während der Entstehung dieser Arbeit erfahren habe, möchte ich mich herzlich bei meinen Eltern, Großeltern und meinem Lebenspartner Bernhard Kirsten bedanken.

Meiner Oma, Dipl.-Med. Päd. Brigitte Krämer, gilt ein besonderer Dank, da sie durch viele Impulse und Ratschläge zur Verwirklichung dieser Arbeit beigetragen hat.

9.2 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

- Herr PD Dr. Wolfgang Lösche und
- Frau Dr. Imme Haubitz,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum

Unterschrift

9.3 Lebenslauf

PERSÖNLICHES

Name: Stephanie Schönberg
Geburtstag: 29. September 1986
Geburtsort: Erfurt
Nationalität: Deutsch
Familienstand: ledig

SCHULISCHE UND AKADEMISCHE AUSBILDUNG

2005-2010 Studium der Zahnmedizin an der
Friedrich-Schiller-Universität Jena
Abschlusszeitpunkt: Dezember 2010
Abschluss: Staatsexamen

2002-2005 Staatl. Gymnasium "Albert Schweitzer", Mühlhausen
Abschlusszeitpunkt: Juni 2005
Abschluss: Abitur

1997-2002 Staatl. Gymnasium in Oberdorla

1993-1997 Staatl. Grundschule Margaretenschule
Mühlhausen / Thüringen

WEITERBILDUNG

seit Juni 2012 Weiterbildungsassistentin für Kieferorthopädie
Praxis für Kieferorthopädie
Dr. med. dent. W. Wesemann in Wetzlar

März 2011-Mai 2012 Wissenschaftliche Mitarbeiterin / Zahnärztin
Poliklinik für Kieferorthopädie
Friedrich-Schiller-Universität Jena
Komm. Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. dent. H. Küpper

WISSENSCHAFTLICHE TÄTIGKEIT

seit April 2011

Dissertation "Veränderungen des Gerinnungsfaktors
XIII bei kardiochirurgischen Eingriffen" unter Leitung
von PD Dr. med. W. Lösche
Friedrich-Schiller-Universität Jena
Klinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie

Ort, Datum

Unterschrift